

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, MANAGUA

UNAN-MANAGUA

RECINTO UNIVERSITARIO RUBÉN DARÍO

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN
QUÍMICA INDUSTRIAL



Escaner - Toda

Biblioteca Central "Salomón de la Selva"
UNAN-Managua
Fecha de Ingreso: 09/02/17
Comprado: Don. Dpto. Química
Precio: C\$ 61589
Registro No.

TITULO: OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE CÁSCARAS
DE CITRUS SINENSIS (NARANJA) POR EL MÉTODO DE
HIDRÓLISIS ÁCIDA EN LOS LABORATORIOS 101 Y LAFQA DEL
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA, UNAN-MANAGUA. JULIO 2015-
JUNIO 2016

Autor:

Br. Yorfren Antonio Guevara Suárez

Tutor:

MCs. Sara Negaresh

Managua, Noviembre del 2016

QUIND
378.242
Koue
2016

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS	ii
OPINIÓN DEL TUTOR.....	iii
RESUMEN	iv
CAPÍTULO I: ASPECTOS GENERALES	
1.1. Introducción.....	1
1.2. Objetivos	2
1.2.1. Objetivo general.....	2
1.2.2. Objetivos específicos	2
1.3. Planteamiento del problema.....	3
1.4. Justificación.....	4
1.5. Antecedentes	5
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	
2.1. Biomasa lignocelulósica, importancia para la producción de biocombustible ..	7
2.1.1 Tipos de biomasa	8
2.1.2. Ventajas de la utilización de biomasa	8
2.1.3. Clasificación de la biomasa.....	9
2.2. Biocombustibles	12
2.2.1 Clasificación de biocombustibles	13
2.2.1.1. Biocombustibles de primera generación	13
2.2.1.2. Biocombustibles de segunda generación	13
2.2.1.3. Biocombustibles de tercera generación	14
2.2.1.4. Biocombustibles de cuarta generación	14
2.3. Generalidades de la naranja	16
2.3.1. Características	16
2.3.2. Composición de la naranja.....	16
2.4. Caracterización química de la cáscara de naranja.....	20
2.5. Descripción Taxonómica de la naranja	20
2.6. Nutrición y Fertilización	21
2.7. Ciclo de vida productivo de la planta.....	22

2.7.1 Estimaciones de los rendimientos por hectárea	23
2.8. Producción mundial de naranja	24
2.9. Producción de naranja en Nicaragua	25
2.9.1. Zonas de Nicaragua recomendadas para producción de naranja	26
2.10. Bioetanol	26
2.10.1. Características generales del bioetanol	27
2.10.2. Producción mundial de bioetanol	28
2.10.3. Producción nacional de bioetanol	30
2.10.4. Uso del bioetanol como biocarburante	30
2.10.5. Importancia del bioetanol	31
2.10.6. Impacto ambiental del bioetanol	32
2.10.7. Ventajas del bioetanol	34
2.10.8. Disposición de residuales de producción de etanol	34
2.10.9. Obtención de etanol a partir de materiales lignocelulósicos	35
2.10.10. Proceso de obtención de bioetanol a partir de biomasa	36
2.10.10.1. Pretratamiento	36
2.10.10.2 Hidrólisis	38
2.10.10.3. Fermentación	40
2.10.10.4. Destilación	45
2.11. Espectrofotometría ultra violeta/visible	46
2.11.1. Espectro electromagnético	46
2.11.2. Radiación electromagnética	47
2.11.3. Ley de beer: Relación entre la cantidad de radiación absorbida y la concentración	48
2.12. Estadística aplicada en un análisis químico	50
2.13. Ajuste de curvas de calibración por medio del método de mínimos cuadrados	50

CAPÍTULO III: HIPÓTESIS

Hipótesis	55
-----------------	----

CAPÍTULO IV: DISEÑO METODOLÓGICO

4.1. Descripción del ámbito de estudio	56
4.2. Tipo de estudio	56
4.3. Población y muestra	56

4.3.1. Población	56
4.3.2. Muestra	57
4.3.2.1. Criterios de inclusión	57
4.3.2.2. Criterios de exclusión	57
4.4. Variables y operacionalización	57
4.4.1. Dependientes.....	57
4.4.2. Independientes	57
4.4.3. Operacionalización de las variables	58
4.5. Materiales y métodos	59
4.5.1. Materiales para recolectar información	59
4.5.1.1. Captación de datos.....	59
4.5.2. Materiales para procesar información	59
4.5.3. Método de análisis	59
4.5.3.1. Materiales y reactivos.....	63

CAPÍTULO V: ORGANIZACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

5.1. Hidrólisis ácida	64
5.2. Fermentación	64
5.3. Cuantificación azúcares totales.....	64
5.4. Cuantificación de etanol	66
5.5. Análisis de marcos de siembra y producción de etanol.....	70

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES.....71

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES.....72

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE FIGURAS Y DIAGRAMAS

Figura 2.1. Clasificación de la biomasa	10
Figura 2.2. Descripción de la cáscara de naranja.....	17
Figura 2.3. Ruta catabólica del piruvato obtenido mediante glicólisis.....	43
Figura 2.4. Conversión del piruvato en etanol y dióxido de carbono.....	44
Figura 2.5. Movimiento ondulatorio de la radiación electromagnética	46
Figura 2.6. El espectro electromagnético	47
Figura 2.7. Espectro visible	48
Figura 2.8. Absorción de la radiación	49
Diagrama 5.1. Concentraciones de jarabe glucosídico (5% y 7% de ácido sulfúrico) vs tiempo de hidrolizado	65
Diagrama 5.2. Concentraciones de etanol en las muestras (5% y 7% de ácido sulfúrico) vs tiempo de fermentado	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina en desechos cítricos.	19
Tabla 2.2. Caracterización química por 100 g de cáscaras de naranja	20
Tabla 2.3. Taxonomía de la naranja	21
Tabla 2.4. Características químicas idóneas de suelo para el cultivo de naranja.	22
Tabla 2.5. Marcos de plantación y cantidades de frutos por planta	24
Tabla 5.1. Producción de etanol por masa seca de cáscara de naranja.....	69

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 2.1. Países de mayor producción de naranjas	25
Gráfica 2.2. Desarrollo del mercado mundial de etanol.....	29
Gráfica 2.3. Distribución regional de la producción y uso mundial del etanol en 2022	29
Gráfica 2.4. Comparación de emisiones de gases entre biocombustibles y combustibles fósiles.	33

ÍNDICE DE ESQUEMAS Y FLUJOGRAMAS

Esquema 2.1. Proceso general de obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica.....	36
Flujograma 4.1. Diagrama de flujo para la obtención de bioetanol a partir de cáscara de <i>Citrus sinensis</i>	62

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1

Tabla 1.1. Valor nutricional por cada 100 g de naranja (<i>C. Sinensis</i>).....	1
------------------------------------------------------------------------------------	---

Anexo 2

Figura 2.1. Proyección de Haworth de celulosa	2
-----------------------------------------------------	---

Anexo 3

Figura 3.1. Proyección de Haworth de unidades de azúcares presentes en la celulosa.....	2
-----------------------------------------------------------------------------------------	---

Anexo 4

Figura 4.1. Estructura de la molécula de la lignina.....	3
----------------------------------------------------------	---

Anexo 5

Figura 5.1. Proyección de Haworth de la estructura de pectina	3
---------------------------------------------------------------------	---

Anexo 6

Tabla 6.1. Producción mundial de naranja	4
------------------------------------------------	---

Anexo 7

Imagen 7.1. Ubicación de los laboratorios de Química de la UNAN-Managua ...	5
-----------------------------------------------------------------------------	---

Imagen 7.2. Ubicación satelital de los laboratorios de Química UNAN-Managua	5
-----------------------------------------------------------------------------	---

Anexo 8

Imagen 8.1. Ubicación del Mercado Oriental Managua.....	6
---------------------------------------------------------	---

Imagen 8.2. Ubicación satelital del Mercado Oriental Managua.....	6
-------------------------------------------------------------------	---

Anexo 9

9.1. Método de hidrólisis ácida, materiales, reactivos y equipos.....	7
-----------------------------------------------------------------------	---

Anexo 10

10.1. Método fenol- ácido sulfúrico de Dubois, materiales, reactivos y equipos	15
--------------------------------------------------------------------------------	----

10.2. Procedimiento del método de Dubois	16
------------------------------------------------	----

10.3. Preparación de estándares de la curva de calibración de Dubois.....	17
---------------------------------------------------------------------------	----

10.4. Procedimiento para la lectura de la curva de calibración	18
----------------------------------------------------------------------	----

Anexo 11

11.1. Método colorimétrico de determinación de etanol, material, reactivos y equipos	21
--------------------------------------------------------------------------------------------	----

11.2. Procedimiento del método colorimétrico de estimación de etanol.....	23
---------------------------------------------------------------------------	----

11.3. Procedimiento para la lectura de la curva de calibración	25
----------------------------------------------------------------------	----

Anexo 12

Imagen 12.1. Cristalería y otros materiales utilizados para esta investigación .. 28

Imagen 12.2. Reactivos utilizados en esta investigación..... 28

Tabla 12.1. Reactivos utilizados en esta investigación 29

Anexo 13

13.1. Curva de calibración del método de Dubois..... 30

13.2. Resultados de la cuantificación de la muestras por medio de la curva de calibración..... 34

13.3. Cálculos de la curva de calibración de Dubois..... 37

Anexo 14

14.1. Curva de calibración del método de determinación de etanol..... 41

14.2. Resultados de la cuantificación de la muestras por medio de la curva de calibración..... 45

14.3. Cálculos de la curva de calibración de determinación de etanol..... 48

Anexo 15

Imagen 15.1. Distribución t de Student 52

Anexo 16

Flujograma 16.1. Producción de bioetanol a partir de cascara de citrus sinensis (Naranja) a escala de laboratorio 53

Anexo 17

Flujograma 17.1. Procedimiento de método de Dubois 59

Anexo 18

Flujograma 18.1. Procedimiento del método colorimétrico de determinación de etanol 62

Anexo 19

Flujograma 19.1. Medidas y rendimiento de naranjas 65

Anexo 20

Tabla 20.1. Rendimiento por plantas y por hectárea 68



DEDICATORIA

A DIOS

Por dar salud a mi familia y a mí, por darme sabiduría e inteligencia de culminar mi carrera y trabajo monográfico, por darme paciencia y fortaleza de seguir adelante.

A mis padres

Damaris Suárez Hurtado y José Antonio Guevara Sequeira por el apoyo, confianza y amor incondicional, por sus consejos, motivación y paciencia, por guiarme desde mi infancia e inculcarme buenos valores.

A mis familiares

Mis abuelos, tías y tíos por motivarme, aconsejarme y darme esperanzas de seguir siempre adelante sin importar los obstáculos



AGRADECIMIENTOS

Primeramente a **DIOS** por darme la sabiduría e inteligencia y guiarme paso a paso en el camino del conocimiento de la ciencia y permitirme culminar una de mis metas.

A mi tutora **MSc. Sara Negaresh** por su motivación y paciencia, por la confianza en mí de llevar acabo esta investigación, por su dedicación, aportes y apoyo.

Al **MSc. José Luis Suazo** por ser como un segundo padre para mí, por su ayuda incondicional.

Al **PhD. Jorge Pitty** por su amistad, sus valiosos aportes y consejos, para mejorar la calidad de esta investigación.

Al **MSc. Róger Manzanarez** por el apoyo con las instalaciones del Laboratorio de Análisis Físico Químico de Alimentos (LAFQA).

A **MSc. Rosa María González** directora del Departamento de Química por su apoyo y motivación.

A **Dra. Martha Lacayo** directora del laboratorio de biotecnología por suministrar el agua destilada para la realización de los métodos.

Al **Sr. Juan Castro** por suministrar la materia prima para realizar este trabajo.

A **mis amigos** por su motivación, consejos y ayuda sobre todo a Gaudy Obando y al Lic. Irving Alemán Vásquez.



OPINIÓN DEL TUTOR


Managua, 15 de agosto de 2016

"AÑO DE LA MADRE TIERRA"

Por la presente, expreso en mi calidad de tutora, mi formal aceptación para que la tesis titulada: OBTENCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE CÁSCARAS DE CITRUS SINENSIS (NARANJA) POR EL MÉTODO DE HIDRÓLISIS ÁCIDA EN LOS LABORATORIOS 101 Y LAFQA DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA, UNAN-MANAGUA. JULIO 2015-JUNIO 2016, sea defendida ante el tribunal que a tal efecto se constituya.

El autor de dicho trabajo, el bachiller **Yorfren Antonio Guevara Suárez**, ha demostrado ser una persona responsable, confiable y competente con respecto a las actividades que se le ha asignado de acuerdo a su perfil profesional.

La monografía en mención, reúne todos los requisitos de un trabajo propio de esta índole, por su rigurosidad, alcance teórico y propuesta metodológica y científica, representando un importante aporte en el campo de las investigaciones e innovación.



Sara Negaresh
Tutora del Trabajo Monográfico
Departamento de Química



RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo obtener bioetanol a partir de cáscara de *Citrus sinensis* aplicando hidrólisis ácida. El material lignocelulósico fue recolectado en la parte oeste del mercado oriental de la ciudad de Managua al cual se le dio un pretratamiento para mejorar su calidad seguido de un proceso experimental para la obtención del etanol.

La fase experimental del proceso de hidrólisis ácida demostró que las condiciones de temperatura de 100 °C y tiempo de hidrolizado de 48 min fueron las más adecuadas para obtener la concentración más alta de azúcares totales, cuantificada a través del método fenol-ácido sulfúrico de Dubois, obteniendo así una concentración máxima de 36.369 mg/ml.

En la etapa de fermentación las condiciones óptimas fueron de 28 °C y un tiempo de fermentación de 6 días. Al analizar las muestras a través del método colorimétrico de determinación de etanol se obtuvo una concentración de etanol de 218.478 mg/ml. ~~→~~ ?

Palabras claves: Cáscara, hidrólisis, fermentación, cuantificación, etanol.

Como obtuve el bioetanol?

CAPÍTULO I

ASPECTOS GENERALES





1.1. Introducción

El uso global de la energía ha ido aumentando desde la Revolución Industrial, las fuentes principales de energía son los combustibles fósiles: carbón, gas natural y petróleo, que aportan entre el 75% y el 85% del total de la energía utilizada, estos han creado numerosos problemas medioambientales por la acumulación de gases de efecto invernadero.

La creciente demanda de energía y el agotamiento de reservas de petróleo han impulsado el desarrollo de tecnologías sostenibles basadas en materias primas renovables como biomasa para la producción de biocombustibles. El uso de éstos, genera una menor contaminación ambiental y contribuye sustancialmente a la reducción de emisión de CO₂ y otros gases como SO₂ y NO₂.

En este estudio se presenta una alternativa para obtener bioetanol a partir de cáscara de *Citrus sinensis* (naranja) por medio de hidrólisis ácida, seguido por una fermentación de los azúcares contenidos en el material lignocelulósico, que tras ser destilado se puede utilizar como combustible en combinaciones con otros haciéndolo más amigable para el medio ambiente.

La primera etapa de obtención de bioetanol es el pretratamiento que consta de: selección de la materia prima, inspección, lavado, secado y pesado seguido del proceso de producción que consta de: deslignificación, hidrólisis ácida, neutralización, cuantificación de azúcares totales, fermentación, desgasificación, destilación, cuantificación de etanol y almacenamiento.



1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Obtener bioetanol a partir de cáscaras de *Citrus sinensis* (naranja) por el método de hidrólisis ácida.

1.2.2. Objetivos específicos

1. Aplicar el método de hidrólisis ácida para la obtención de monosacáridos de la cáscara de naranja.
2. Determinar el contenido de azúcares totales por el método de Fenol-Ácido sulfúrico de Dubois.
3. Cuantificar el contenido de bioetanol obtenido de las muestras fermentadas de cáscara de naranja a través del método colorimétrico de determinación de etanol.



1.3. Planteamiento del problema

A diario se observa la contaminación ambiental, debido al desarrollo industrial y comercial generando acumulación de desechos, enfermedades y empobrecimiento, es por esa razón que surge la necesidad de buscar alternativas, con el fin de utilizar más eficientemente estos recursos y al mismo tiempo con ello, evitar el incremento de dicha contaminación.

En Nicaragua, un país tropical, se consume en abundancia los cítricos, entre ellos la naranja dulce (*Citrus sinensis*), sin embargo, tanto a nivel doméstico, como artesanal e industrial, el uso de la naranja se limita a la pulpa, de la cual se extrae el jugo para su uso en la elaboración de una gran gama de productos alimenticios.

Este uso específico de la naranja genera desechos orgánicos (cáscara, hollejo, semilla y residuos de pulpa) que van a dar a los vertederos municipales de basura. En dichos vertederos los desechos tanto orgánicos como inorgánicos no reciben ningún tratamiento, simplemente son separados y finalmente depositados en un área socavada para tal efecto. Una vez saturada la fosa se cubre con tierra y se busca otra zona nueva para el mismo fin.

Por las razones antes planteadas, surge la necesidad de proponer alternativas para el tratamiento y aprovechamiento de residuos orgánicos. La producción de bioetanol a partir de cáscaras de naranja podría representar una alternativa económicamente viable en calidad de un sustituto parcial de combustibles fósiles reduciendo la contaminación ambiental.



1.4. Justificación

Los aumentos constantes en los precios de la gasolina, sus derivados y los problemas ambientales generados por el uso de los combustibles fósiles ha desarrollado la necesidad de proponer soluciones más económicas y menos perjudiciales para el medio ambiente.

La cáscara de naranja es una buena alternativa como materia prima para la producción de biocombustible, ya que es un desecho que puede ser utilizado sin ser perjudicial al medio ambiente y además disminuye la carga orgánica desechada en los vertederos municipales.

La importancia de este trabajo es brindar un método de obtención de bioetanol, el cual podría representar una alternativa para sustituir parte del consumo de combustibles fósiles y de esta manera disminuir las emisiones de CO₂ que perjudican al medioambiente.



1.5. Antecedentes

Los estudios científicos realizados para obtención de etanol a partir de residuos como cascara de naranja han sido limitados debido a que las investigaciones han centrado la atención a otras materias como residuos de poda, plantas de crecimiento rápido, bagazo de caña, maíz, etc. Algunos estudios de residuos de cascara de naranja y otros son los siguientes:

2006: Monsalve, Medina y Ruiz, en la Universidad Nacional de Colombia, obtuvieron bioetanol a partir de cáscaras de banano y almidón de yuca mediante hidrólisis ácida con ácido sulfúrico y fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* y *Zymomonas mobilis*, obteniendo concentraciones de etanol cercanas al 8% (Monsalve, Medina & Ruiz, 2006).

2009: Mario, Carlos, Daniela, Wilfredo, Candelaria, Lesly, Ángel, hicieron un estudio en la Universidad de Cartagena, Cartagena de indias (Colombia) obtuvieron bioetanol a partir de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) por hidrólisis ácida con ácido sulfúrico al 3, 5 y 7 %; fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* y determinación de azúcares reductores por espectrofotometría UV-Vis con ácido dinitrosalicílico (DNS), concluyeron que con mayor concentración de ácido sulfúrico (7%) se obtiene mayor concentración de azúcares (25 mg de azúcares reductores por cada gramo de cáscaras de naranja) (Alvear, y otros, 2009).

2010: Lesly, Candelaria, Ángel, Mario, Carlos, Daniela, Wilfredo, Natali, Arnulfo, en la Universidad de Cartagena, Cartagena de indias (Colombia) obtuvieron bioetanol a partir de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) y piña (*Ananás sativus*) por hidrólisis ácida con ácido sulfúrico al 5 y 7 %; fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* en un reactor con agitación durante 7 horas y microdestilación. Determinaron el contenido de etanol por cromatografía de gases y obtuvieron, con las cáscaras de naranja un contenido de etanol mayor, 8.4 mg/g, que con las cáscaras de piña, 1.0 mg/g (Tejeda, y otros, 2010).



2015: Montiel y Romero en la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN- Managua) obtuvieron bioetanol a partir de la coronta del maíz variedad HS-5 por hidrólisis ácida diluida con concentración de ácido sulfúrico al 7%, con tiempo de hidrolizado de 1.5 h y temperatura de 100 °C, fermentación separada utilizando *Saccharomyces cerevisiae* con un tiempo de fermentación de 8 días. Determinaron la concentración de azúcares reductores totales por el método espectrofotométrico DNS obteniendo como resultado 38% (5.848 g/L) y concentración de bioetanol por análisis cromatográfico obteniendo el 24% (2.88 g/L) con rendimiento del 30% (Montiel Centeno & Romero Castro, 2015).

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO





2.1. Biomasa lignocelulósica, importancia para la producción de biocombustible

Biomasa es toda sustancia orgánica renovable de origen tanto animal como vegetal, procedente de la transformación natural o artificial de la misma (Moreno, 2006). La energía de la biomasa proviene de la energía que almacena la planta al realizar la fotosíntesis, utilizan la energía del sol para formar sustancias orgánicas.

La biomasa de origen lignocelulósico, es el material orgánico más abundante en la tierra, sus fuentes son los bosques, cultivos agrícolas, residuos de cosechas y otros, está constituida por celulosa, hemicelulosas, lignina, extractivos (mezcla de diferentes compuestos orgánicos) y algunos componentes inorgánicos, que se transforman en cenizas después de la combustión del material. Estos componentes, son empleados para diversos fines industriales (Navarro, 2013).

El aprovechamiento de la biomasa para la elaboración de este combustible ha recibido más atención como posible sustituto de la gasolina, el uso de biomasa celulósica en la producción de bioetanol ha sido beneficioso para el medio ambiente, la aplicación a gran escala de bioetanol como un combustible de transportación puede contribuir sustancialmente a la reducción de la emisión de CO₂.

Un aspecto de gran importancia a tener en cuenta en el aprovechamiento de los materiales lignocelulósicos es su manipulación y almacenamiento, al ser materiales biodegradables, las condiciones de almacenamiento y manipulación, son de gran importancia para la conservación del material en las condiciones adecuadas para su procesamiento, evitando las pérdidas que se pueden producir por procesos de fermentación y degradación incontrolados, los cuales podrían afectar las propiedades del material y disminuir su rendimiento.



Los procesos de aprovechamiento y valorización se pueden dividir en físico-químicos (alteración de las características físico-químicas del material), termoquímicos (descomposición térmica de la biomasa) y bioquímicos (debidos al empleo de microorganismos o enzimas que degradan la materia orgánica), así mismo pueden utilizarse directamente o indirectamente, con el fin de obtener productos con valor agregado como bioetanol (Navarro, 2013).

2.1.1 Tipos de biomasa

Se divide en cuatro tipos diferentes de biomasa: natural, residual seca y húmeda y los cultivos energéticos (Marín, 2010):

Biomasa natural: Es la que se produce en la naturaleza sin ninguna intervención humana.

Biomasa residual (seca y húmeda): Son los residuos que se generan en las actividades de agricultura (leñosa y herbácea) y ganadería, en las forestales, en la industria maderera y agroalimentaria, entre otras y que todavía pueden ser utilizados y considerados subproductos (aserrín, cáscara de almendra, orujillo, podas, etc).

Biomasa residual húmeda: Vertidos biodegradables, es decir, las aguas residuales urbanas e industriales y los residuos ganaderos (principalmente purines).

Cultivos energéticos: Estos cultivos se generan con la única finalidad de producir biomasa transformable en combustible.

2.1.2. Ventajas de la utilización de biomasa

La utilización de la biomasa con fines energéticos tiene las siguientes ventajas medioambientales (Marín, 2010):

- Disminución de las emisiones de CO₂, aunque para el aprovechamiento energético de esta fuente renovable se tiene que proceder a una combustión y el resultado de la misma sea agua y CO₂, la cantidad de este



gas causante del efecto invernadero, se puede considerar que es la misma cantidad que fue captada por las plantas durante su crecimiento es decir, que no supone un incremento de este gas a la atmósfera.

- No emite contaminantes sulfurados o nitrogenados, ni partículas sólidas, si se utilizan residuos de biomasa, esto se traduce en un reciclaje y disminución de residuos. Canaliza, por tanto, los excedentes agrícolas alimentarios, permitiendo el aprovechamiento de las tierras de retirada.
- Puede provocar un aumento económico en el medio rural, al aumentar la producción y venta de cultivos energéticos.
- Disminuye la dependencia externa del abastecimiento de combustibles.

2.1.3. Clasificación de la biomasa

Según su procedencia, se puede clasificar en:

- Ganadera
- Agrícola
- Forestal
- Urbana
- Industrial
- Agroindustrial

La clasificación de la biomasa se puede observar en la figura 2.1 (Navarro, 2013).

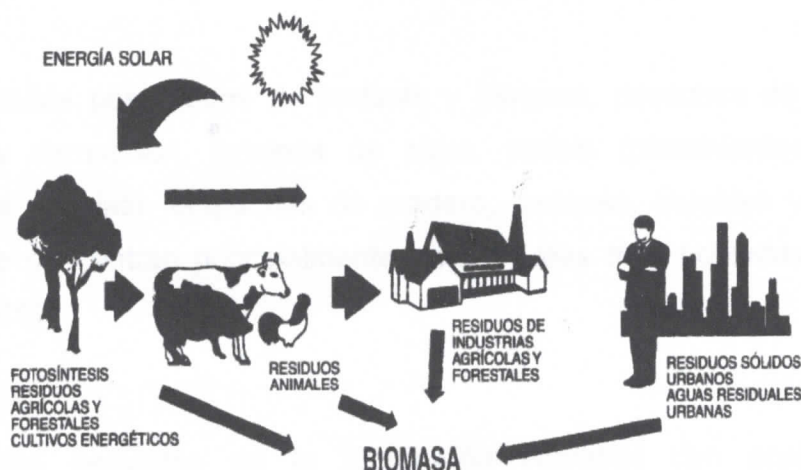


Figura 2.1. Clasificación de la biomasa; Fuente: (Navarro, 2013).

Ganadera

Incluye todo residuo biodegradable procedente de la actividad ganadera, y se puede clasificar en estiércol compuesto por la mezcla de las deyecciones y el material de la cama del ganado; purines, mezcla de deyecciones y el agua de limpieza y arrastre; aguas sucias procedentes del lavado, desperdicios de abrevaderos, deyecciones diluidas y animales muertos (Andalucía, 2012).

Agrícola

Es el material vegetal producido en las explotaciones agrícolas, comprende los residuos de cultivos leñosos como los restos de poda de cítricos, almendro, viñedo, etc y los residuos de los cultivos herbáceos como la paja de cereal, los restos del cultivo del algodón, el cañote de girasol o maíz, etc, (Navarro, 2013).

Forestal

Proviene de las actividades de explotación forestal y de la necesidad de realizar trabajos de mantenimiento, limpieza de los bosques y las masas forestales, mediante aclarados, podas, limpiezas de bosques, etc. Dentro de este grupo también se incluyen los residuos generados por la industria forestal (aserraderos, industrias de primera transformación, fabricantes de productos elaborados de madera, fabricantes de corcho y de pasta de papel) (Solars, 2013).



Urbana

Está constituida por podas de jardines y parques, desechos de construcción (madera) y demolición, limpieza de sitios, pallets (provenientes de centros comerciales y ferias), empaques de madera, cartones, muebles y otros, estos residuos se concentran principalmente en las áreas más pobladas (Energía un desafío, 2015).

Industrial

Son aquellos derivados de la producción industrial con posibilidades de generación de biomasa energética residual, como la industria de manufacturación maderera o agroalimentaria (Navarro, 2013).

Agroindustrial

Incluye los subproductos derivados de los procesos de producción industrial de productos agroalimentarios, como el bagazo de caña de azúcar, cáscara de arroz, cascara de cítricos, orujo y orujillo de aceituna, etc, cuando se encuentra concentrada en un lugar donde se genera, suele ser contaminante debido a la degradación de ésta (Navarro, 2013).



2.2. Biocombustibles

Los biocombustibles son recursos energéticos procesados por el ser humano a partir de materias, denominadas biomasa, pueden ser líquidos, sólidos o gaseosos, y su finalidad es liberar la energía contenida en sus componentes químicos mediante una reacción de combustión (Álvarez, 2009).

Son una fuente de energía renovable debido a que es rico en carbohidratos y son una forma de energía solar transformada, se identifican con aquellas fuentes de energía obtenidas a partir de biomasa mediante su procesamiento químico, térmico o biotecnológico, entre ellos se puede mencionar el biodiesel, bioetanol, biogás y biohidrógeno (Cruz, 2013).

Los biocombustibles son de origen biológico obtenidos de manera renovable a partir de restos orgánicos que proceden habitualmente de trigo, maíz o semillas oleaginosas, (Haim, 2010), vegetales, plantas de crecimiento rápido, bagazo de caña de azúcar, madera de bosques, residuos de procesos agrícolas y forestales, basura industrial como por ejemplo cáscaras de cítricos, papel (Álvarez, 2009).

Los biocombustibles obtenidos a partir de la fuente antes mencionada reducen el volumen total de CO₂ que se emite a la atmósfera, existen varios tipos, a los cuales se les clasifica de acuerdo al insumo o materia prima y tecnología empleada para producirlos, debido a los avances en la tecnología, esta clasificación se realiza por generaciones (Álvarez, 2009).

Las diversas ventajas de los biocombustibles con respecto a otras energías, como la menor contaminación ambiental, la sostenibilidad de los mismos y las oportunidades para sectores rurales de siembra y cosecha de cultivos, ha hecho pequeños y grandes productores tengan gran interés principalmente los gobiernos que pretenden disminuir su dependencia de los combustibles fósiles y así lograr mayor seguridad energética.



La producción de biocombustibles a nivel mundial ha crecido exponencialmente en los últimos años (Gráfica 2.2), su desarrollo se ha visto favorecido por el alto precio del petróleo que continuamente varía y las políticas de subvención pública adoptadas por los distintos países.

2.2.1 Clasificación de biocombustibles

2.2.1.1. Biocombustibles de primera generación

Algunos de los insumos son de procedencia agrícola y están conformados por las partes de las plantas como hojas, raíces, frutos, remas o la planta en su totalidad, las cuales tienen un alto contenido de almidón, azúcares, aceites, también se emplean como insumos las grasas animales, grasas y aceites de desecho provenientes de la cocción de elaboración de alimentos, desperdicios sólidos orgánicos (Álvarez, 2009).

Las ventajas de estos biocombustibles son su facilidad de procesamiento, sus bajas emisiones de gases de efecto invernadero (excepto en el caso del maíz, donde el balance de estas emisiones es casi nulo) y un balance positivo en dichas emisiones, pero tiene como desventaja el desvío de recursos alimenticios hacia la producción de energéticos (Álvarez, 2009).

2.2.1.2. Biocombustibles de segunda generación

Están formados por residuos agrícolas y forestales compuestos principalmente por celulosa. Los procesos de producción de biocombustible de segunda generación tienen un nivel de complejidad más alto en relación con los de primera generación, debido a que requieren mayores tratamientos químicos y físicos para la obtención de carbohidratos de interés para el proceso de fermentación y otros procesos que se requieren para la obtención de biocombustible de interés (Álvarez, 2009)



Mediante los procesos de segunda generación se fabrica etanol, metanol, gas de síntesis (mezcla de anhídrido carbonoso, mejor conocido como monóxido de carbono e hidrógeno), biodiesel, 2.5-dimetilfurano (DMF), entre otros (Álvarez, 2009).

La ventaja principal en la producción de estos biocombustibles es la inexistencia de desviaciones de alimentos provenientes de la agricultura hacia el sector energético y el aprovechamiento de residuos orgánicos que son desechados pero su desventaja es la poca ganancia en disminución de las emisiones de gases de efecto invernadero durante el procesamiento de los insumos, respecto a los biocombustibles de primera generación (Álvarez, 2009).

2.2.1.3. Biocombustibles de tercera generación

Los insumos son vegetales no alimenticios de crecimiento rápido y con una alta densidad energética almacenada en sus componentes químicos, por lo que se les denomina cultivos energéticos. Los procesos de obtención de biocombustibles se encuentran en fase de desarrollo, sin embargo, se ha logrado producir biodiesel y etanol a nivel planta piloto (Álvarez, 2009).

Las ventajas de estos biocombustibles son el secuestro de anhídrido carbónico (CO_2) para la producción de los insumos y un balance positivo en la emisión de gases de efecto invernadero, pero su desventaja es la utilización de tierras de cultivo de alimentos para sembrar los insumos, con excepción de las algas verdes (Álvarez, 2009).

2.2.1.4. Biocombustibles de cuarta generación

Esta generación de biocombustibles son producidos a partir de bacterias genéticamente modificadas, las cuales emplean anhídrido carbónico (CO_2) o alguna otra fuente de carbono.



Actualmente esta generación de biocombustibles se encuentra en fase teórica, sólo se conoce la posible ruta de síntesis del etanol a partir de anhídrido carbónico, sin embargo, depende totalmente de la información genética de una bacteria artificial y puede tener limitaciones termodinámicas importantes (Álvarez, 2009).



2.3. Generalidades de la naranja

2.3.1. Características

La naranja es la fruta que más se produce en el mundo y la de mayor consumo per cápita, proviene del sureste de Asia y pertenece al género *Citrus* de la familia de las Rutáceas (*Rutaceae*), entre los diferentes tipos de naranja, las variedades de naranja dulce (*Citrus sinensis*) son las más importantes a nivel comercial, los frutos de naranja son bayas modificadas llamados hesperidios, que se caracterizan por ser carnosos y tener semillas dispuestas en forma radial en su parte central (Bidi.uson.mx, 2010).

2.3.2. Composición de la naranja

En general, la naranja está conformada en gran cantidad por agua, en su estado maduro, el fruto alcanza un diámetro de 6 a 10 centímetros y un peso sin cáscara aproximadamente de 150 a 200 gramos, contiene niveles moderados de proteínas y es un alimento bajo en grasas, se le considera una buena fuente de fibra y vitamina C, también se encuentran presentes pequeñas cantidades de compuestos bioactivos tales como terpenos, flavonoides, ácidos fenólicos, ascórbico, tartárico y cítrico todos ellos compuestos orgánicos no nutrientes benéficos para la salud humana. Sus principales carbohidratos incluyen monosacáridos como la glucosa y fructosa; disacáridos como la sacarosa y polisacáridos como las pectinas (Bidi.uson.mx, 2010) (Anexo 1).

La cáscara de naranja es rica en celulosa, hemicelulosa, lignina, sustancias pécticas (Tabla 2.1), está formada por el exocarpo o flavedo, capa externa de color amarillo, por el mesocarpio o albedo, capa interna esponjosa de color blanco y endocarpo es la parte comestible del fruto; corresponde a la porción interior de los carpelos, los cuales son segmentos cerrados que contienen vesículas con jugo conocidos también como gajos y semillas (Bidi.uson.mx, 2010), (Figura 2.2).

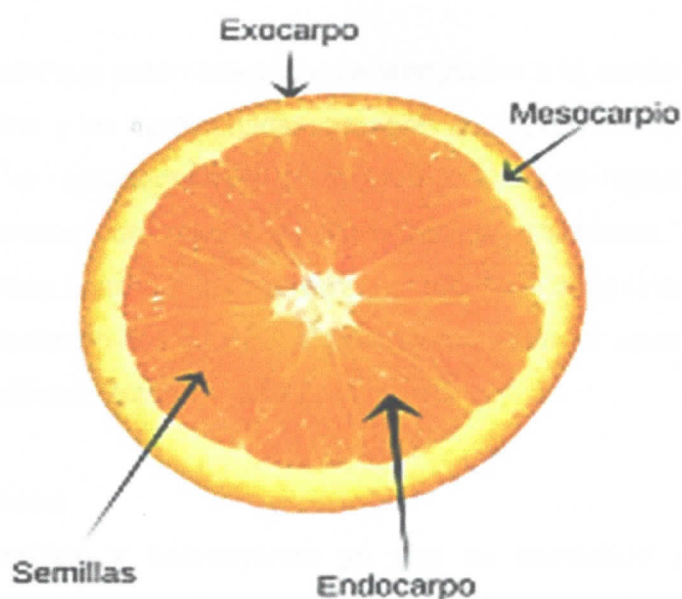


Figura 2.2. Descripción de la cáscara de naranja; **Fuente:** Autor del trabajo investigativo

➤ Celulosa

Es un polímero de cadena lineal, formado por la unión de anhidroglucosa, en cadenas de glucano, las unidades anhidroglucosa, están unidas por enlaces β -(1,4) glucosídicos de gran importancia en la fermentación (Anexo 2), debido a este tipo de unión, se ha establecido a la celobiosa como la unidad repetida en las cadenas de celulosa (Navarro, 2013).

La cristalinidad de la celulosa, hace que la misma sea insoluble en agua, esta estructura cristalina, limita el ataque de diferentes reactivos químicos y enzimas en general, la estructura de la celulosa en los materiales lignocelulósicos, consta de zonas cristalinas y zonas amorfas, para romper o penetrar esta estructura, se requieren severos tratamientos y condiciones, que permitan incrementar la accesibilidad de la celulosa, la estructura de la celulosa no es el único factor que limita su accesibilidad (Navarro, 2013).



Otros componentes que están íntimamente vinculados a la celulosa en el material, como son la lignina y las hemicelulosas, juegan un importante rol en los procesos utilizados para el aprovechamiento de los materiales lignocelulósicos. Los tratamientos químicos con ácidos, álcalis o agentes oxidantes, pueden además romper la estructura interna y las barreras estéricas de la lignina y hemicelulosas asociadas, favoreciendo los procesos posteriores para el aprovechamiento del material lignocelulósico (Navarro, 2013).

➤ Hemicelulosa

Carbohidrato complejo y heterogéneo ya que su estructura posee diferentes polímeros como pentosas (xilosa y arabinosa), hexosas (manosa, glucosa y galactosa) entrelazadas entre sí glucosídicamente, muchas de ellas (Anexo 3), en la degradación hidrolítica dan junto a glucosa, manosa, galactosa, etc (Cruz, 2013) la hemicelulosa sirve de conexión entre la lignina y las fibras de celulosa y da toda la rigidez a la red de celulosa, hemicelulosa y lignina (Laureano, 2005).

En general, las hemicelulosas y en particular los xilanos, pueden ser solubilizados de manera eficiente por la hidrólisis en medio ácido, para lograr una solubilización de la glucosa presente en la celulosa, en proporción semejante a la que se logra con las hemicelulosas, se requiere un tratamiento mucho más drástico de hidrólisis ácida, o una combinación de hidrólisis ácida-tratamiento enzimático (Navarro, 2013) la relativa facilidad de extracción de azúcares de las hemicelulosas, la han convertido en una fuente de obtención de combustibles.



➤ Lignina

La lignina es el componente no carbohidrático más importante, se considera que la lignina cumple dos funciones fundamentales: dar resistencia y servir de pegamento a la pared celular y aportar resistencia al ataque de los microbios la lignina es un polímero condensado de alto peso molecular y estructura amorfa, está constituida por unidades fenilpropano, estas unidades se encuentran unidas por enlaces carbono-carbono (C-C) y tipo éter (C-O-C) (Anexo 4), el heteropolímero amorfo no es soluble en agua y ópticamente inactivo; todo esto hace que la degradación de la lignina sea muy complicada (Navarro, 2013).

➤ Pectina

Las pectina polisacárido no estructural que se compone principalmente de unidades de ácido galacturónico unidas por enlaces 1,4- α -glucosídicos (Anexo 5), sustancia blanca amorfa que forma en agua una solución viscosa; combinadas en proporciones adecuadas con azúcar y ácidos forman una sustancia gelatinosa utilizada como espesante (Valencia & Román, 2004).

Las propiedades fisicoquímicas del subproducto en mención (cáscara de naranja) dependen de las condiciones climáticas y del terreno donde se hayan generado y son esenciales en la producción de bioetanol.

Tabla 2.1. Porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina en desechos cítricos.

Biomasa	% (w/w)BS Celulosa	% (w/w)BS Hemicelulosa	% (w/w)BS Lignina
Desechos cítricos (cascara)	20.63	10.86	2.62
	16.2 \pm 0.5	13.8 \pm 0.3	1.0 \pm 0.3

Fuente: (Sánchez, 2010)



2.4. Caracterización química de la cáscara de naranja

Tabla 2.2. Caracterización química por 100 g de cáscaras de naranja

Parámetro	Valor
Sólidos solubles (°Brix)	7.1 ± 1.2
pH	3.93 ± 0.03
Ácido cítrico %	0.29 ± 0.03
Índice de formol	34 ± 2.4
Humedad %	85.9 ± 1.6
Grasa % (DM)	1.55 ± 0.17
Ceniza % (DM)	3.29 ± 0.19
Proteína % (DM)	6.16 ± 0.23
Carbohidratos % (DM)	89.0 ± 1.1
Fibra soluble % (DM)	-
Azúcares neutrales %	3.8 ± 0.3
Ácido irónico %	7.1 ± 0.9
Lignina %	3.2 ± 0.4
Pectina % (DM)	17 ± 5

Fuente: (Cerón Salazar & Cardona Alzate, 2011).

2.5. Descripción Taxonómica de la naranja

Familia: *Rutaceae*, género: *Citrus*, especie: *Citrus sinensis*, Porte: Reducido (6-10 m). Ramas poco vigorosas (casi tocan el suelo), tronco corto, Hojas: Limbo grande, alas pequeñas y espinas no muy acusadas, flores: Ligeramente aromáticas, solas o agrupadas con o sin hojas. Los brotes con hojas (campaneros) son los que mejores frutos dan (Tabla 2.2) (Sierra Herrera, 2012).



Tabla 2.3. Taxonomía de la naranja

Taxonomía de la naranja	
Reino	Plantae
División	Traqueofitas
Subdivisión	Angiospermas
Clase	Dicotiledoneas
Subclase	Arquiclamideas
Orden	Geraniales
Suborden	Geraniineas
Familia	Rutaceae
subfamilia	Aurantioideae
Tribu	Citreae
Género	Citrus
Subgénero	Eucitrus
Especie	Citrus sinensis

Fuente: (González Peláez, 2014)

2.6. Nutrición y Fertilización

Los cítricos absorben nutrientes durante todo el año, pero la absorción es más acentuada durante las etapas de brotación, floración y formación de fruta es por eso la importancia de la fertilización ya que proporciona los elementos esenciales para la planta y los frutos en forma aprovechable, balanceada y libre de sustancias tóxicas, cada elemento mineral cumple unas funciones específicas, (González Peláez, 2014) (Tabla 2.3).

La fertilización es una de las principales prácticas en el cultivo de los cítricos y puede constituirse en un factor limitante de la productividad. Tiene por objetivo aumentar el nivel nutricional del suelo, mejorar el balance nutricional de la planta



para aumentar la producción y calidad de las frutas, evitar excesos o deficiencias, minimizar daños perjudiciales al suelo y a las aguas (González Peláez, 2014).

Tabla 2.4. Características químicas idóneas de suelo para el cultivo de naranja

Parámetro	Rango Adecuado
pH	5 - 6.5
Materia Orgánica	4 – 8%
Fósforo (P)	8 – 10 ppm
Potasio (K)	0.3 – 0.4 meq/100 G.
Calcio (Ca)	3 – 4 meq/100 G.
Magnesio (Mg)	0.8 – 1.2 meq/100 G.
Azufre (S)	10 – 15 ppm
Boro (B)	0.3 – 1 ppm
Cobre (Cu)	1 – 1.5 ppm
Hierro (Fe)	40 – 50 ppm
Manganeso (Mn)	5 – 10 ppm
Zinc (Zn)	3 – 5 ppm

Fuente: (González Peláez, 2014)

2.7. Ciclo de vida productivo de la planta

La vida productiva del naranjero se ubica alrededor de los 40 años de edad. Los periodos de vida de la planta en el campo son 4 (Avilán L. R., 1983):

a) **Crecimiento:** Caracterizado por un acentuado aumento del área foliar o follaje de la planta, acompañado por el aparición de los primeros frutos y un aumento en la producción de los mismos, dicho periodo puede situarse entre los 2 y 6 años de edad de la planta.

b) **Periodo de plena producción:** inicia a partir del 6to año, la máxima eficiencia productiva de la planta está alrededor de los 8 a 10 años de edad. Durante esta



etapa se establece una estrecha relación entre el incremento del área foliar de la planta y el número de frutos producidos.

c) **Periodo de producción:** Durante el mismo, la planta tiende a mantener los niveles de producción alcanzados durante el período anterior o incrementarlos en forma discreta. La eficiencia de la planta disminuye, y los incrementos en tamaño de los árboles no están relacionado en forma directa con la producción de frutos. Este período se inicia a partir de los 12 a 14 años de edad de la planta y puede prolongarse hasta los 18 a 20 años, de acuerdo al mantenimiento de la plantación.

d) **Periodo de senilidad:** Comienzo de la etapa final, caracterizada por una acentuada disminución de los rendimientos.

2.7.1 Estimaciones de los rendimientos por hectárea

Uno de los cambios tecnológicos de mayor repercusión en los niveles de producción es el incremento en la densidad de población de los frutales perennes de tipo arbóreo, como la naranja (*Citrus sinensis*) (Avilán & Ruiz, 1999).

En la búsqueda de alternativas para incrementar la producción, los productores al establecer sus huertos lo hacen mediante el empleo de diferentes marcos de plantación 8 x 8 m; 7 x 7 m; 8 x 6 m; 7 x 6 m y otros (Avilán & Ruiz, 1999)

Los marcos tradicionales de plantación son de 8 x 8 m (156 pl/ha) y 7 x 7 m (204 pl/ha), los marcos de alta densidad plantación son de 8 x 4 m (319 pl/ha) y 7 x 3,5 m (408 pl/ha) (Avilán & Ruiz, 1999) (Tabla 2.4).



Tabla 2.5. Marcos de plantación y cantidades de frutos por planta

Sistema de cultivo	Nº de árboles por ha	Edad años	Número de frutos por árbol
Tradicional	204 pl/ha	3	30
		4	90
		5	200
		6	300
		7	450
Alta densidad	408 pl/ha	3	30
		4	90
		5	200
		6	300
		7	450

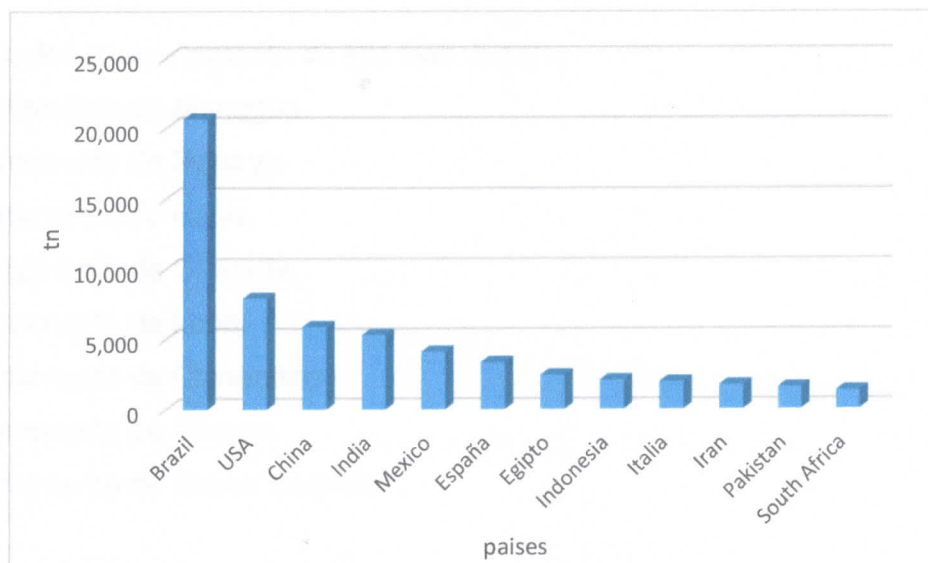
Fuente: (Avilán L. R., 1983)

2.8. Producción mundial de naranja

La producción mundial de naranja ha pasado por un período de enorme crecimiento, a partir de la segunda mitad de los ochenta. La producción de naranjas se ha expandido rápidamente. Niveles más altos de producción han permitido a su vez mayores niveles de consumo total y per cápita. Incluso ha sido posible que un crecimiento más rápido en el área de productos procesados tuviera lugar, gracias a las mejoras en el transporte y empaque, donde se ha reducido los costos y mejorado la calidad (Gráfica 2.1; Anexo 6).



Gráfica 2.1. Países de mayor producción de naranjas



Fuente: (FAO, 2012)

2.9. Producción de naranja en Nicaragua

Las principales plantaciones de naranja dulce se encuentran en el Departamento de Río San Juan, al sureste de Nicaragua, en la zona fronteriza con Costa Rica en este departamento hay más de cuatro mil quinientas hectáreas de árboles de naranjas de las variedades piña y valencia, que se aclimatan muy bien al ambiente de esa zona, donde caen aproximadamente dos mil milímetros de lluvias anuales. En todo el país hay naranjales pero de patio, como Masaya, Carazo, Managua, entre otros. Solo en el norte de Nicaragua existen unas 15 mil hectáreas de cítricos, especialmente en Nueva Segovia y Estelí. (IICA, 2007)

Las exportaciones han sido enviadas por Frutales del Río San Juan hacia Costa Rica, país donde la fruta es luego procesada en la empresa Tico Fruit y posteriormente exportada al mercado estadounidense y el resto de América Central (IICA, 2007).



2.9.1. Zonas de Nicaragua recomendadas para producción de naranja

- San Carlos (Departamento de Río San Juan).
- Departamento de Managua.
- Departamento de Masaya.
- Departamento de Rivas.
- Departamento de Granada.
- Departamento de León.
- Departamento de Chinandega.
- Departamento de Carazo.
- Departamento de Nueva Segovia.

Hay que destacar que por la riqueza de los suelos de Nicaragua la naranja tiene potencial para cultivarse en todas las zonas del país, exceptuando las de temperaturas muy bajas (IICA, 2007).

2.10. Bioetanol

Es un producto químico obtenido a partir de la fermentación de los azúcares que se encuentran en productos vegetales y residuos, estos azúcares se encuentran formando parte de la estructura de carbohidratos como sacarosa, almidón, hemicelulosa y celulosa (Díaz, 2011)

Lo que hace que el bioetanol usado como biocarburante tenga un equilibrio neto de emisiones de CO₂ es que la materia prima utilizada para su producción son azúcares que provienen de plantas que a su vez crecen gracias al proceso de fotosíntesis, en el que la luz del sol, el CO₂ de la atmósfera, el agua y los nutrientes de la tierra forman moléculas orgánicas complejas de azúcar (Díaz, 2011)



Los hidratos de carbono y la matriz lignocelulósica que se concentra en la parte fibrosa de la planta, esto forma parte del balance energético de la tierra, por ello cuando se usa el bioetanol como carburante emite a la atmósfera el dióxido de carbono que utilizó la planta para crecer y es por eso que ayuda a reducir los niveles de CO₂ en la atmósfera (Díaz, 2011)

Las tres principales clases de materia prima para la producción de bioetanol son el azúcar (melaza, jugo de caña), almidones (maíz, trigo) y biomasa lignocelulósica (paja de arroz, bagazos, etc), los almidones y azúcares son compuestos energéticos que se transforman en azúcares y a continuación se convierten en etanol por medio de fermentación alcohólica, la lignocelulosa como materia prima puede ser adquirida ya sea de cultivos de biomasa forestal o dedicada a los residuos de la agricultura o residuos industriales (Cruz, 2013)

2.10.1. Características generales del bioetanol

- Se produce por la fermentación de los azúcares contenidos en la materia orgánica.
- Básicamente se obtiene de tres fuentes principales tales como plantas ricas en azúcares, cereales, material lignocelulósico.
- Se puede producir a base de cualquier biomasa que contenga cantidades significativas de almidones o azúcares.
- El bioetanol mezclado con la gasolina produce un biocombustible de alto poder energético con características muy similares a la gasolina pero con una importante reducción de las emisiones contaminantes en los motores tradicionales de combustión.



2.10.2. Producción mundial de bioetanol

En el año 2012, la producción mundial de etanol se vio estancada en los países en desarrollo, debido principalmente a la reducción de la oferta en Brasil y en Estados Unidos de América, la cual se vio parcialmente compensada por otros países en desarrollo, en los que se observaron aumentos (Argentina, India, África y otros países de América del Sur). se anticipa un gran aumento de la producción en ambos países (OCED-FAO, 2013).

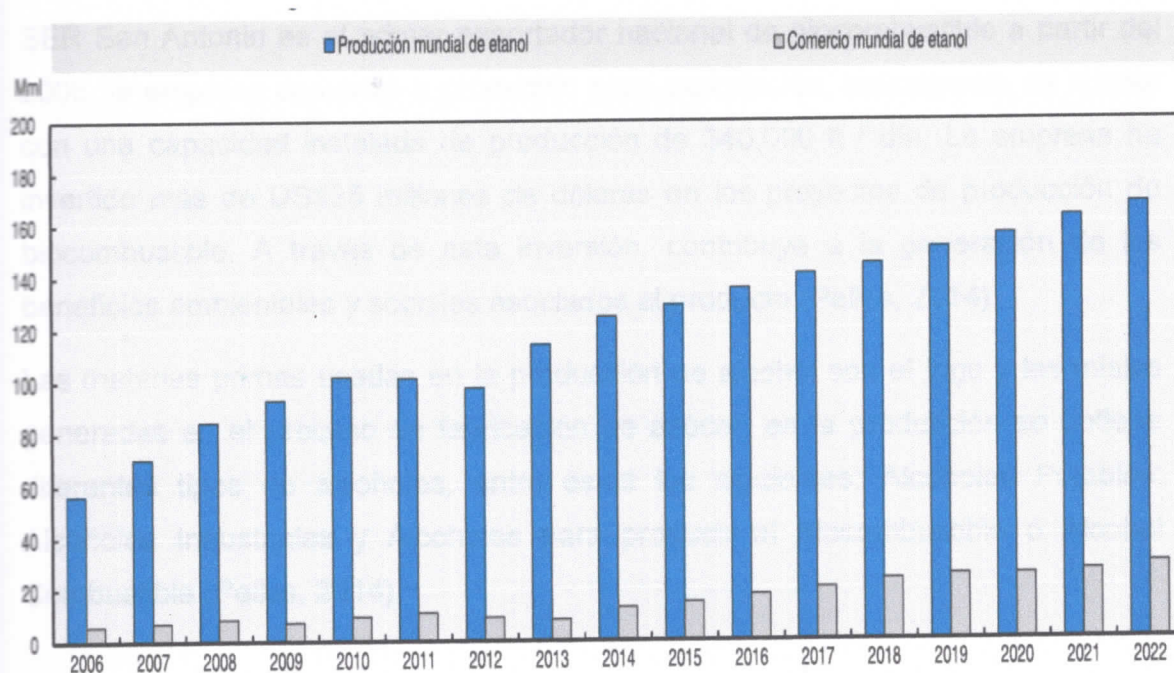
En 2022, se prevé que la producción mundial de etanol aumente en casi 70% y llegue a 168 Mml en 2022 (Gráfica 2.2). Se espera que Estados Unidos de América, Brasil y la Unión Europea sigan siendo los tres principales productores (Gráfica 2.3), (OCED-FAO, 2013).

La producción y el uso en Estados Unidos de América y la Unión Europea están impulsados principalmente por las políticas vigentes (es decir, RFS2 (Norma de energía renovable en Estados Unidos de América) y la Directiva de Energía Renovable (RED), respectivamente). Se proyecta que la producción de etanol en los países en desarrollo aumente a 72 Mml en 2022 (OCED-FAO, 2013).

El creciente uso del etanol en Brasil está relacionado con el desarrollo de la industria de combustible flexible y la demanda de importaciones de Estados Unidos de América para cumplir el mandato de biocombustible avanzado, así como para su aumento en los mínimos de mezcla (OCED-FAO, 2013).

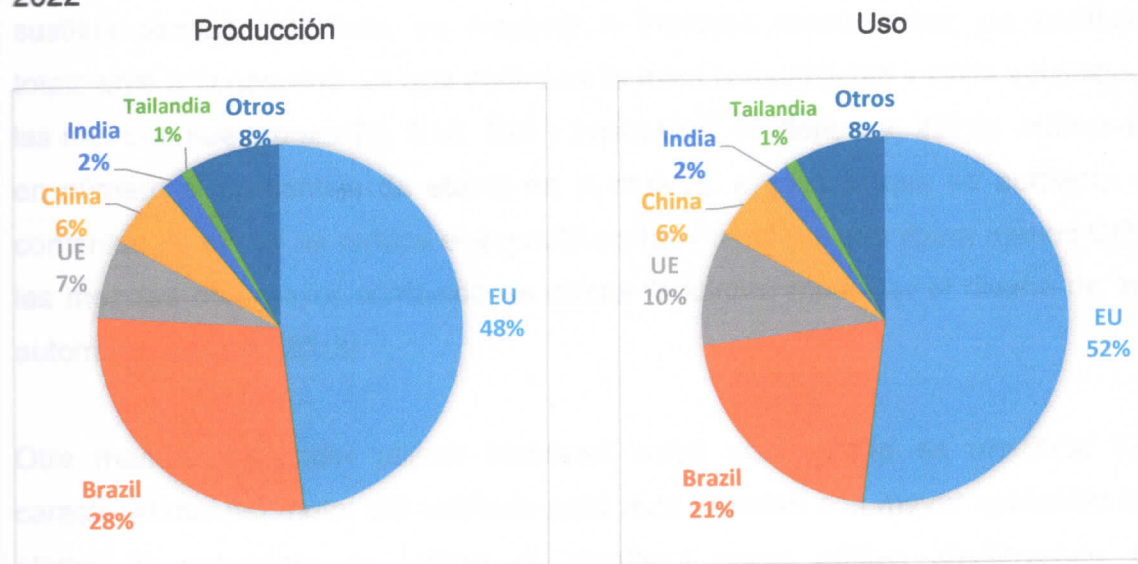


Gráfica 2.2. Desarrollo del mercado mundial de etanol



Fuente: (OCED-FAO, 2013)

Gráfica 2.3. Distribución regional de la producción y uso mundial del etanol en 2022



Fuente. (OCED-FAO, 2013).



2.10.3. Producción nacional de bioetanol

SER San Antonio es el primer exportador nacional de biocombustible a partir del 2006, la empresa comenzó a producirlo para exportación, actualmente se cuenta con una capacidad instalada de producción de 340,000 lt / día. La empresa ha invertido más de US\$25 millones de dólares en los proyectos de producción de biocombustible. A través de esta inversión, contribuye a la generación de los beneficios ambientales y sociales asociados al producto (Pellas, 2014).

Las materias primas usadas en la producción de alcohol son el jugo y las mieles generadas en el proceso de fabricación de azúcar, en la producción se obtiene diferentes tipos de alcoholes, entre estos los siguientes: Alcoholes Potables; Alcoholes Industriales y Alcoholes para producir el Biocombustible ó Alcohol Combustible (Pellas, 2014).

2.10.4. Uso del bioetanol como biocarburante

Existen tres formas de utilizar el bioetanol como biocarburante, la más utilizada consiste en emplear el bioetanol en mezcla con gasolina convencional para sustituir parcialmente esta, en mayores o menores proporciones; no sustituye totalmente a la gasolina, ya que está da a la mezcla estabilidad y resta volatilidad, las mezclas pueden ser E5, E10, E20 y hasta E95, (Hallenbeck, 2012), indicando en número el porcentaje de etanol en la mezcla, a medida que se aumenta el contenido de etanol se reduce el impacto contaminante, ya que libera menos CO₂, las mezclas con mayor contenido de etanol requieren modificar el diseño de los automóviles (Cruz, 2013).

Otra manera de poder utilizar bioetanol como combustible es modificar las características del motor del vehículo para usar mezclas con mayor contenido de etanol, la estrategia es utilizar el bioetanol como aditivo sustituyendo el metilterbutil éter (MTBE) aditivo utilizado para incrementar el nivel de octanaje en la gasolina común, pero que es altamente contaminante (Cruz, 2013).



2.10.5. Importancia del bioetanol

El bioetanol es el producto de fermentación alcohólica de diversos materiales orgánicos a través de la acción de microorganismos, la producción de bioetanol perdió importancia a finales de la primera mitad del siglo XX, al ser sustituida por la producción de bioetanol por vía sintética, a partir de derivados del petróleo, que resulta más barata, pero no puede ser utilizado en la preparación de alimentos, bebidas alcohólicas, ni medicamentos (Nodarse, 2007).

El costo de producción del etanol está relacionado y es dependiente del costo de la materia prima, del volumen y de la composición de la misma, el éxito de cualquier plan de desarrollo de cultivos para la producción de etanol es dependiente de la selección de los cultivos apropiados (Nodarse, 2007).

La elevación de los precios del petróleo hicieron volver los ojos hacia la vía fermentativa de producción de bioetanol, hoy se trabaja fundamentalmente en la búsqueda de materias primas baratas que sustituyan a las tradicionales materias azucaradas, como melazas, productos intermedios de la producción de azúcar y, jugos de frutas, entre otros, a la vez que se busca una mayor eficiencia en los procesos de fermentación, recuperación y purificación al alcohol producido (Nodarse, 2007).



2.10.6. Impacto ambiental del bioetanol

El impacto ambiental del uso de bioetanol es favorable con respecto a los combustibles fósiles en todas las etapas de producción, excepto en las etapas iniciales, donde se liberan grandes cantidades de materiales agresivos para el ambiente, debido al proceso que prepara a la biomasa fermentada (Hernández, 2003).

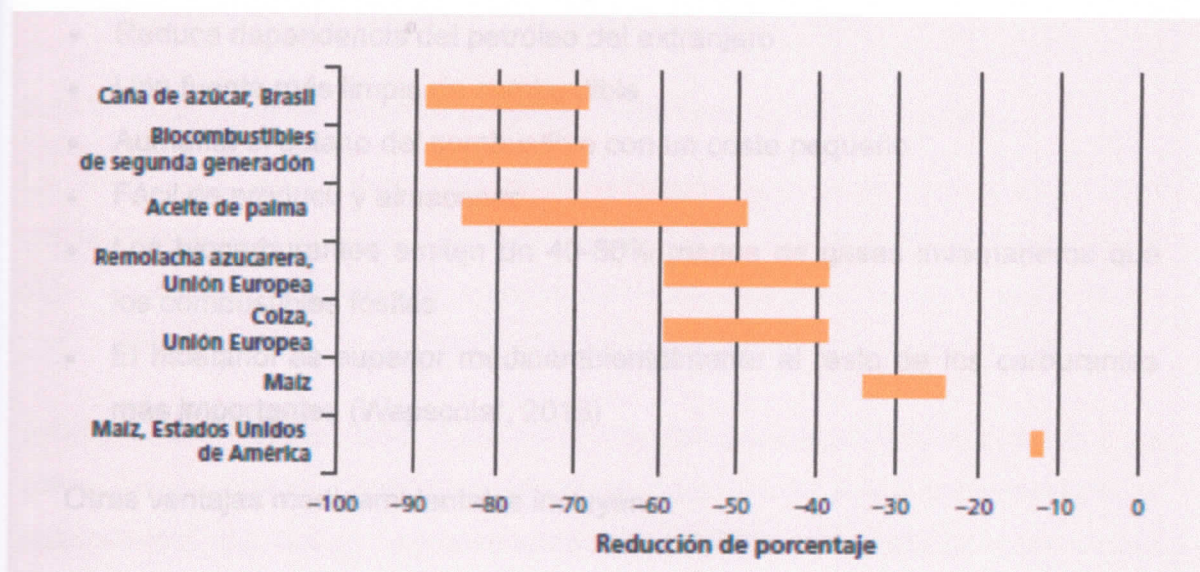
La producción de bioetanol tiene sus ventajas y desventajas, por un lado, la factibilidad de utilizar materia prima de desecho para la producción hace atractivo su uso como reemplazo de los combustibles fósiles; sin embargo, por otro lado, se deben realizar más estudios para lograr procesos de producción más amigables con el medio ambiente, puesto que muchos de los beneficios que se obtienen por el uso de bioetanol se pierden por los procesos, que muchas veces no son ecológicamente compatibles (Hernández, 2003).

Los balances de gases de efecto invernadero varían en gran medida en función del cultivo y de la ubicación y dependen de los métodos de producción de materias primas, las tecnologías de conversión y el uso. Insumos como los fertilizantes nitrogenados y el modo de generación de energía (a partir de carbón o aceite o nuclear) empleados para convertir las materias primas en biocombustibles podrían resultar en múltiples niveles de emisiones de gases de efecto invernadero y variar de una región a otra (FAO, 2008) (Gráfica 2.4).

El balance energético del proceso de obtención de etanol a partir de biomasa es positivo, debido a que la energía liberada al consumirse el etanol es mayor a la energía que se requiere para producirlo (Hernández, 2003).



Gráfica 2.4. Comparación de emisiones de gases entre biocombustibles y combustibles fósiles.



Fuente. (FAO, 2008).

Los combustibles fósiles como los biocombustibles, tienen origen biológico. Toda sustancia susceptible de ser oxidada puede otorgar energía, si esta sustancia procede de plantas, desechos, madera etc, al ser quemada devuelve a la atmósfera dióxido de carbono que la planta tomó del aire anteriormente, las plantas, mediante la fotosíntesis, fijan energía solar y CO_2 en moléculas orgánicas (Marín, 2010).

El petróleo es energía proveniente de fotosíntesis de plantas realizada hace millones de años, es por eso que su cantidad es limitada, en el caso de los biocombustibles la sustancia a ser quemada proviene de fotosíntesis reciente, por eso se afirma que la utilización de biocombustibles no tiene impacto neto en la cantidad de dióxido de carbono que hay en la atmósfera, algunos la consideran energía renovable en el sentido que el ciclo de plantación y cosecha se podría repetir indefinidamente, teniendo en cuenta que no se agoten los suelos ni se contaminen los campos de cultivo (Marín, 2010).



2.10.7. Ventajas del bioetanol

- Fuente de combustible renovable y doméstico
- Reduce dependencia del petróleo del extranjero
- Una fuente más limpia de combustible
- Aumenta el octano del combustible con un coste pequeño
- Fácil de producir y almacenar
- Los biocarburantes emiten un 40-80% menos de gases invernaderos que los combustibles fósiles
- El bioetanol es superior medioambientalmente al resto de los carburantes más importantes (Wepscolar, 2015)

Otras ventajas medioambientales incluyen:

- Reducción de la lluvia ácida
- Mejora de la calidad del aire en zonas urbanas
- No contamina el agua
- Reducción de residuos (Wepscolar, 2015)

2.10.8. Disposición de residuales de producción de etanol

Consiste en una solución a los residuales sólidos, líquidos y gaseosos generados en el proceso, punto muy importante, ya que una de las fuerzas motrices del desarrollo de los procesos de obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica, es la preservación del medio ambiente, los procesos de obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica, pueden generar grandes cantidades de desechos como los siguientes (Navarro, 2013):

- Productos químicos que es necesario recuperar o disponer
- Biomasa celular residual de la fermentación.
- Agua residual del proceso.



- Vinazas, el residual de la destilación. Se ha calculado que una planta de 100 millones de litros de etanol al año, genera una contaminación semejante a una ciudad de 1,4 millones de habitantes.

2.10.9. Obtención de etanol a partir de materiales lignocelulósicos

La composición de los materiales lignocelulósicos, constituidos por celulosa (con zonas cristalinas y amorfas), hemicelulosas y lignina, es una estructura compleja y difícil de penetrar y atacar por agentes químicos, requieren de un pretratamiento para romper esa estructura y facilitar los procesos posteriores (Navarro, 2013).

Teniendo en cuenta estas características, los procesos empleados para la obtención de etanol, tienen que ajustarse de acuerdo a las características y propiedades de estos componentes y requerir en general de varios pretratamientos. La celulosa y hemicelulosas, deben ser hidrolizadas a azúcares simples, para luego ser fermentados a etanol, la fermentación de la glucosa hidrolizada a partir de la celulosa es un proceso establecido (Navarro, 2013).

Sin embargo, la fermentación de las pentosas hidrolizadas de las hemicelulosas, es un proceso que presenta en la actualidad algunas dificultades técnicas económicas. La lignina, está formada por estructuras complejas de polifenoles y no puede ser fermentada a etanol, al igual que los extractivos y otros componentes presentes además produce un efecto inhibitor en los procesos fermentativos (Navarro, 2013).

Por lo tanto cualquier proceso viable de obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica, tiene que incluir la extracción de la lignina y su aprovechamiento en la obtención de productos de valor y generación de energía, esta situación crea un problema adicional, ya que un proceso donde se produzcan varios productos requiere tener un mercado seguro para todos (Navarro, 2013).

A fin de evitar acumulaciones de uno de ellos o crear un nuevo residual, la lignina es fuente de una gran cantidad de productos de gran valor agregado, así como una posible fuente de energía que pudiera emplearse total o parcialmente en

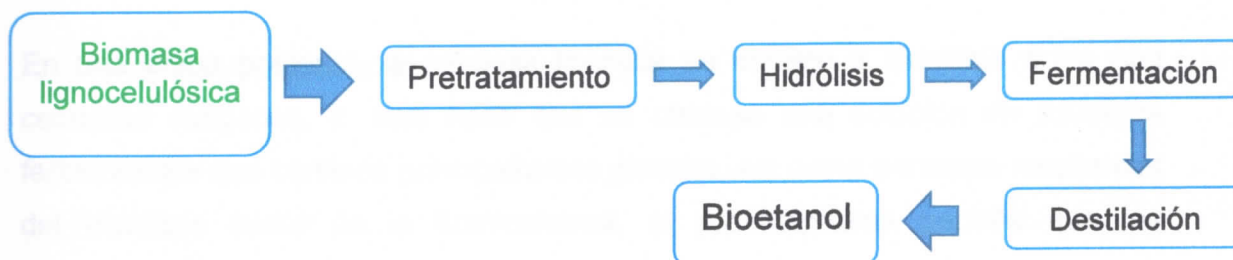


cubrir las demandas energéticas de una planta productora de etanol a partir de biomasa (Navarro, 2013).

2.10.10. Proceso de obtención de bioetanol a partir de biomasa

El etanol carburante producido a partir de biomasa por la fermentación de azúcares (Esquema 2.1), reduce considerablemente las emisiones de dióxido de carbono (CO_2); este cuenta con un alto octanaje. Es reconocido en la actualidad como un biocombustible de alta calidad que puede ser usado en mezclas con gasolina o sólo (Navarro, 2013).

Esquema 2.1. Proceso general de obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica.



Fuente: (Navarro, 2013)

2.10.10.1. Pretratamiento

La etapa distintiva de este proceso es el pretratamiento, que consiste en las operaciones de recolección, transporte, manipulación, almacenamiento, molido o astillado y otras, para reducir el tamaño de las partículas, lograr la apertura del material fibroso, convertirlo en una suspensión que se pueda bombear y facilitar la posterior penetración de los agentes químicos de hidrólisis (Navarro, 2013).

Las etapas de pretratamiento e hidrólisis, constituyen unos de los principales problemas vinculados a la producción de etanol a partir de biomasa lignocelulósica, el complejo lignocelulósico está compuesto principalmente de una



matriz de carbohidratos compuesta de celulosa y lignina enlazada por cadenas de hemicelulosa (Navarro, 2013).

2.10.10.1.1. Tipos de pretratamientos

Pretratamientos Físicos y Físico-Químicos

Tienen como objetivo desintegrar esta matriz de tal manera que la celulosa reduzca al máximo su grado de cristalinidad y aumente la celulosa amorfa, que es la más adecuada para el posterior ataque enzimático, adicionalmente, la mayor parte de la hemicelulosa se hidroliza durante el pretratamiento y la lignina se libera o puede incluso descomponerse (Navarro, 2013).

En una etapa posterior, la celulosa liberada se somete a hidrólisis ácida con celulasas exógenas, lo cual hace que se obtenga una solución de azúcares fermentables que contiene principalmente glucosa, así como pentosas resultantes del hidrólisis inicial de la hemicelulosa, el pretratamiento permite que los rendimientos en la hidrólisis de celulosa aumenten de menos del 20% de los rendimientos teóricos a valores mayores al 90 % (Navarro, 2013).

Pretratamiento de explosión con vapor

Es el método más empleado para el pretratamiento de los materiales lignocelulósicos en este método la biomasa preparada adecuadamente se somete a vapor a altas temperatura y presión y posteriormente se realiza una descompresión rápida, lo que provoca la explosión del tejido celular y la separación de sus componentes en determinada extensión, lo que facilita la posterior hidrólisis, la adición de H_2SO_4 , SO_2 , CO_2 mejora la hidrólisis posterior (Navarro, 2013).



Pretratamiento de explosión con amoníaco

En este proceso, el material se somete al ataque de amoníaco líquido a altas temperatura y presión y posteriormente se realiza una descompresión rápida, semejante a la explosión con vapor, provocando una rápida sacarificación del material lignocelulósico, este proceso no genera inhibidores de la fermentación, ni requiere de partículas de pequeño tamaño para el proceso (Navarro, 2013).

Otras ventajas de este proceso consisten en la posibilidad de reciclar el amoníaco por su volatilidad y es el que rompe la cristalinidad de la celulosa, también se usa la explosión con CO₂, el rendimiento es menor que en los dos casos anteriores, pero mayor que en la hidrólisis enzimática sin pretratamiento (Navarro, 2013).

Pretratamiento con ozono

Tiene la ventaja de realizarse a temperatura ambiente y presión atmosférica y no genera inhibidores, para la hidrólisis ácida, se han empleado ácidos sulfúrico y clorhídrico concentrados, con la desventaja de ser tóxicos y corrosivos, además deben recuperarse para hacer el proceso económicamente viable (Navarro, 2013).

2.10.10.2 Hidrólisis

La hidrólisis se puede realizar catalizada por ácidos, bases, calor y con la ayuda de microorganismos y tiene por objetivo convertir la masa viscosa obtenida en la etapa de deslignificación en una solución de azúcares en forma de oligómeros para después convertir los azúcares oligoméricos en azúcares monoméricos, en general glucosa (C₆H₁₂O₆) y xilosa (C₅H₁₀O₅) (Navarro, 2013).

Las sustancias inhibidoras se originan como resultado de la hidrólisis de los diferentes componentes, de los ácidos orgánicos esterificados de la hemicelulosa, y de los derivados fenólicos solubilizados de la lignina, así mismo, los inhibidores se forman a partir de productos de degradación de los azúcares solubles y de la



lignina, por eso y dependiendo del tipo de pretratamiento e hidrólisis utilizados, es necesario llevar a cabo la detoxificación de las corrientes que van a ser sometidas a fermentación (Navarro, 2013). Para fines de esta investigación referencia a la hidrólisis ácida.

2.10.10.2.1 Tipos de hidrólisis

Hidrólisis ácida

La hidrólisis ácida consiste en un proceso químico, mediante el cual se emplean catalizadores ácidos que transforman las cadenas de polisacáridos en sus monómeros elementales (azúcares fermentables o reductores).

La hidrólisis puede realizarse poniendo en contacto el material celulósico con una solución diluida de ácido sulfúrico a altas temperaturas por un tiempo determinado, se realiza en reactores de agitación o a flujo a contracorriente en un reactor estático en un corto tiempo, a alta concentración de sólidos y altas temperaturas (Viñals Verde & Bell García, 2012).

Esta tecnología comenzó a desarrollarse desde los años 50 por Tennessee Valley Authority (TVA), se enfoca en el tratamiento de desechos agrícolas y orgánicos, transformándolos en azúcares fermentables para la producción de etanol, el proceso se inicia con la recolección de la Biomasa; se seca y se muele hasta un tamaño de partícula de 5 mm (malla nº 4) (Demain, 2005).

Luego, se pasa a una primera etapa de hidrólisis donde se agrega ácido sulfúrico al 7 % y se calienta a 125 °C en un autoclave a 15 psi por 15 min, cerca del 75% de la hemicelulosa se hidroliza a xilosa, el remanente de sólidos (lignina y celulosa) se remueve en un filtro prensa y se pasa a un reactor en donde la temperatura se incrementa para hidrolizar la celulosa a glucosa (Demain, 2005).



El resultado es una mezcla de pentosas, hexosas y una solución que contiene 11.6 % de glucosa, 9% de xilosa, (Demain, 2005), en la fermentación la glucosa se fermenta a etanol por la acción de la levadura *Sacharomyces cerevisiae*, la mezcla resultante se destila para remover el etanol, la lignina y el material celular se secan y se puede utilizar como combustible de caldera (Herrera, 2006).

Hidrólisis Enzimática

Consiste en romper (hidrolizar) la celulosa por la adición de determinadas enzimas. La celulosa es degradada por las celulasas a azúcares, que pueden ser fermentados por levaduras o bacterias para producir etanol. El proceso consiste en descomponer la celulosa y la hemicelulosa del residuo en azúcares sencillos y transformarlos en etanol por fermentación. En primer lugar se lleva a cabo un pretratamiento del residuo cuyo objetivo es alcanzar los mejores resultados en las etapas siguientes (hidrólisis y fermentación). Como resultado del pretratamiento se obtiene una disolución de azúcares provenientes de la ruptura de la hemicelulosa y un residuo sólido (constituido principalmente por la celulosa del residuo original) (Marín, 2010).

La hidrólisis enzimática se produce mediante un grupo de enzimas llamadas hidrolasas, estas enzimas ejercen un efecto catalítico hidrolizante, es decir, producen la ruptura de enlaces por agua según: $H-OH + R-R' \rightarrow R-H + R'-OH$. En algunos casos este grupo puede ser transferido por la enzima a otras moléculas y se considera la hidrólisis misma como una transferencia del grupo al agua (Gerena Baron, 2013).

2.10.10.3. Fermentación

La fermentación se realiza con el objetivo de convertir los azúcares monoméricos como la glucosa ($C_6H_{12}O_6$) y xilosa ($C_5H_{10}O_5$) a etanol (Navarro, 2013). El proceso de fermentación se realiza en ausencia de oxígeno, excepto durante el tiempo de inoculación, en el cual se inocula una pequeña cantidad de la levadura para



permitir un crecimiento limitado de los microorganismos para que estos superen su fase de latencia y entren en la fermentación ya en la fase exponencial (Biocombustibles, 2007). Existen tecnologías para la fermentación, las opciones son las siguientes:

- **Hidrólisis y fermentación separadas (SHF)**

Tiene la ventaja de que cada operación puede realizarse en condiciones óptimas de temperatura y pH, pero la acumulación de glucosa como resultado de la hidrólisis, inhibe la actividad de la celulasa (Navarro, 2013).

- **Sacarificación y fermentación simultáneas (SSF), usando celulasas de fuentes externas**

En este caso, la glucosa obtenida es transformada rápidamente a etanol, este proceso tiene una mayor velocidad de hidrólisis y mayor rendimiento, necesita una carga menor de enzima y reduce el riesgo de contaminación, se necesita sin embargo un compromiso entre la temperatura de operación y la velocidad total del proceso, ya que el paso de hidrólisis es más lento que la fermentación (Navarro, 2013).

- **Sacarificación y fermentación separadas**

Los microorganismos también producen celulasa, llamado también como conversión microbiana directa, se emplea *Clostridia* anaeróbica, la cual crece a altas temperaturas produciendo enzimas celulolíticas que hidrolizan el sustrato y los azúcares generados son convertidos inmediatamente en etanol, tiene las desventajas de un bajo rendimiento en etanol, provocado por la formación de subproductos, la baja tolerancia del microorganismo al etanol y el limitado crecimiento en los siropes hidrolizados (Navarro, 2013).



2.10.10.3.1. Microorganismos utilizados en la fermentación alcohólica

Tradicionalmente, los microorganismos más empleados en la obtención de etanol son las levaduras, aunque existen varios tipos de bacterias y hongos que también son capaces de sintetizarlo en cantidades considerables (Garzón Castaño & Hernández Londoño, 2009).

Las levaduras pueden ser definidas como hongos unicelulares que se reproducen por gemación o fisión, están implicadas en fenómenos de competición por nutrientes, de antagonismo o de simbiosis en los suelos, las aguas, los animales y los vegetales. Su presencia depende en primer lugar de la disponibilidad de carbono orgánico, temperatura, pH y de la presencia de agua (Garzón Castaño & Hernández Londoño, 2009).

Figura 2.3

El hábitat de las levaduras, puede ser en las capas superiores del suelo o en materias orgánicas sobre todo de origen vegetal que sean ricas en carbohidratos; estas pueden aislarse especialmente del suelo de los viñedos y huertos, de las superficies de uvas, manzanas y de la mayoría de los frutos dulces. Son arrastradas por el aire, junto con el polvo (Garzón Castaño & Hernández Londoño, 2009).

Captura de levaduras

En el caso de las levaduras, cuando éstas toman el azúcar del medio, se inicia toda una serie de reacciones intermedias, conocidas como la ruta glicolítica o ruta Embden-Meyerhof (Figura 2.3). A través de este proceso bioquímico, las levaduras rompen los azúcares en energía, intermediarios útiles para el crecimiento de las células, y una gran cantidad de productos finales (etanol, dióxido de carbono y calor), los cuales son excretados por las mismas. La glicólisis es una ruta catabólica en la cual la glucosa es convertida a dos moléculas de piruvato (Garzón Castaño & Hernández Londoño, 2009).

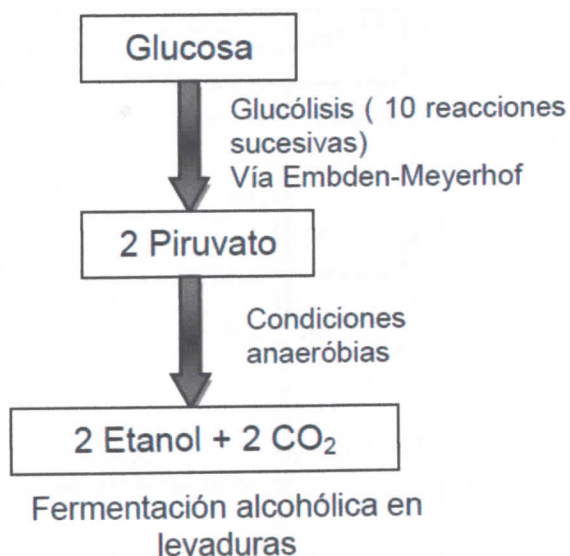


Figura 2.3. Ruta catabólica del piruvato obtenido mediante glicólisis; **Fuente:** (Garzón Castaño & Hernández Londoño, 2009).

Las levaduras empleadas para llevar a cabo el proceso de fermentación alcohólica, requieren, que la glucosa sea catabolizada mediante la glucólisis o ruta de Embden-Meyerhof, para obtener el piruvato el cual posteriormente por la acción de enzimas específicas, se convierte anaeróbicamente en etanol y dióxido de carbono (Garzón Castaño & Hernández Londoño, 2009) (Figura 2.4).

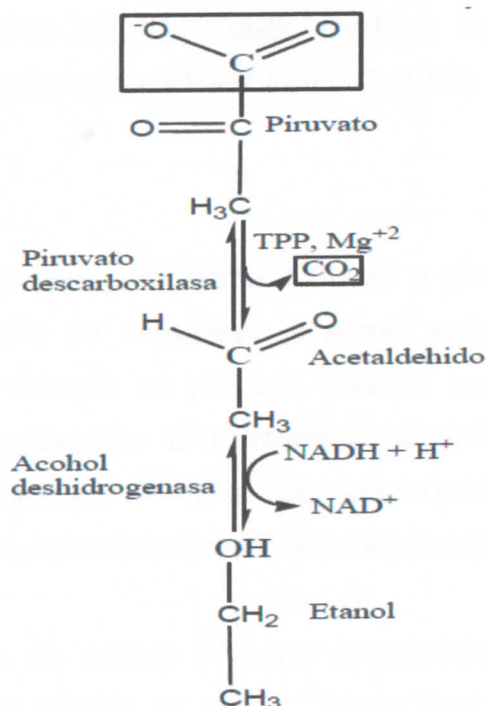


Figura 2.4. Conversión del Piruvato en Etanol y Dióxido de Carbono; **Fuente:** (Garzón Castaño & Hernández Londoño, 2009).

2.10.10.3.1.1. Tipos de microorganismos

Saccharomyces cerevisiae

Es la especie de levaduras utilizada por excelencia para la obtención de etanol a nivel industrial puesto que es un microorganismo de fácil manipulación y recuperación, no es exigente en cuanto a su cultivo, no presenta alto costo, tolera altas concentraciones de etanol, en la fermentación produce bajos niveles de subproductos, es osmotolerante, capaz de utilizar altas concentraciones de azúcares, presenta alta viabilidad celular para el reciclado y características de floculación y sedimentación para el procesamiento posterior (Fajardo C, 2008).

Saccharomyces cerevisiae es una levadura cuya colonia es color crema o blanco, apariencia húmeda y brillante de bordes irregulares. La temperatura óptima de



crecimiento es de 25 a 30 °C. Puede producir ascosporas cuando hay requerimientos nutricionales adecuados (Fajardo C, 2008).

Zimomonas mobilis

Se considera una alternativa para producir etanol a gran escala debido a que presentan un rendimiento de conversión a etanol superior al de la levadura tradicional, esta cepa necesita un pH más elevado aumentando el riesgo de contaminación (Garzón Castaño & Hernández Londoño, 2009). En estudios comparativos con levaduras, a nivel de laboratorio, planta piloto y en fermentaciones por lotes, la bacteria presenta las siguientes ventajas:

- Mayor captación de azúcar y mayor producción de etanol. Posee un transporte de fácil difusión de azúcar (Rueda Martín & Herrera Hernández, 2006).
- Menor producción de biomasa. Las levaduras producen 2 moles de ATP, por mol a de glucosa, las *Z. Mobilis* fermenta glucosa y produce solo 1 mol de ATP por mol de glucosa (Rueda Martín & Herrera Hernández, 2006) .
- Mayor tolerancia al etanol. Esta bacteria puede lograr concentraciones de etanol superiores al 12% p/v en fermentaciones con glucosa (Rueda Martín & Herrera Hernández, 2006).

2.10.10.4. Destilación

El alcohol producido por fermentación contiene una parte significativa de agua, que debe ser eliminada para su uso como combustible, para eso se utiliza el proceso de destilación, dado que el etanol tiene un punto de ebullición menor (78,4°C) que el agua (100°C), la mezcla se calienta hasta que el alcohol se evapore y se pueda separar por condensación de éste, (Marín, 2010).



crecimiento es de 25 a 30 °C. Puede producir ascosporas cuando hay requerimientos nutricionales adecuados (Fajardo C, 2008).

Zimomonas mobilis

Se considera una alternativa para producir etanol a gran escala debido a que presentan un rendimiento de conversión a etanol superior al de la levadura tradicional, esta cepa necesita un pH más elevado aumentando el riesgo de contaminación (Garzón Castaño & Hernández Londoño, 2009). En estudios comparativos con levaduras, a nivel de laboratorio, planta piloto y en fermentaciones por lotes, la bacteria presenta las siguientes ventajas:

- Mayor captación de azúcar y mayor producción de etanol. Posee un transporte de fácil difusión de azúcar (Rueda Martín & Herrera Hernández, 2006).
- Menor producción de biomasa. Las levaduras producen 2 moles de ATP, por mol a de glucosa, las *Z. Mobilis* fermenta glucosa y produce solo 1 mol de ATP por mol de glucosa (Rueda Martín & Herrera Hernández, 2006) .
- Mayor tolerancia al etanol. Esta bacteria puede lograr concentraciones de etanol superiores al 12% p/v en fermentaciones con glucosa (Rueda Martín & Herrera Hernández, 2006).

2.10.10.4. Destilación

El alcohol producido por fermentación contiene una parte significativa de agua, que debe ser eliminada para su uso como combustible, para eso se utiliza el proceso de destilación, dado que el etanol tiene un punto de ebullición menor (78,4°C) que el agua (100°C), la mezcla se calienta hasta que el alcohol se evapore y se pueda separar por condensación de éste, (Marín, 2010).



2.11. Espectrofotometría ultra violeta/visible

La espectrofotometría se basa en la absorción de fotones por el analito, en los métodos espectrométricos, la muestra en solución absorbe radiación electromagnética procedente de una fuente adecuada, y la cantidad absorbida se relaciona con la concentración del analito en la solución (Gary, 2009).

2.11.1. Espectro electromagnético

La radiación electromagnética es una forma de energía radiante que se propaga en forma de ondas transversales. Su vibración es perpendicular a la dirección de su propagación, lo cual imparte un movimiento ondulatorio a la radiación (Figura 2.5). La onda se describe ya sea en términos de su longitud de onda, que es la distancia que ocupa un ciclo completo, o en función de su frecuencia, que es la cantidad de ciclos que pasan por un punto fijo por unidad de tiempo. Al recíproco de la longitud de onda se le llama número de onda, y es la cantidad de ondas que hay en una longitud unitaria, o sea la distancia por ciclo (Gary, 2009).

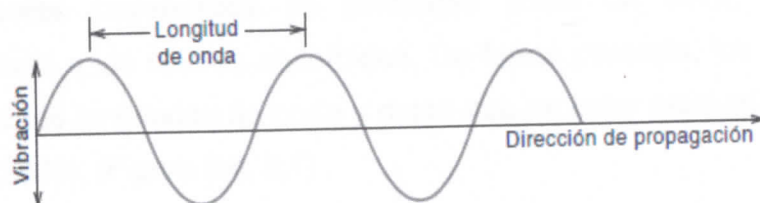


Figura 2.5. Movimiento ondulatorio de la radiación electromagnética; **Fuente:** (Gary, 2009)

La relación entre longitud de onda y frecuencia es (Gary, 2009):

$$\lambda = \frac{c}{\nu}$$

EC.2.1

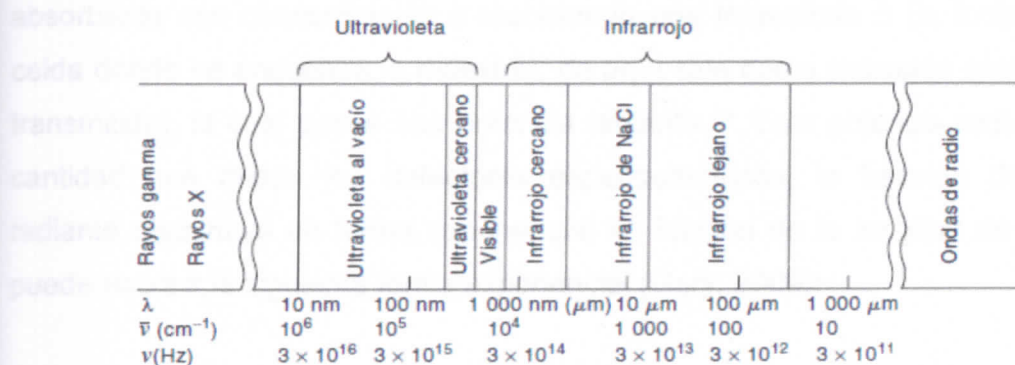


Donde: λ es la longitud de onda en centímetros (cm), ν es la frecuencia en segundos recíprocos (s^{-1}), o hertz (Hz), y c es la velocidad de la luz (3×10^{10} cm/s). El número de onda se representa mediante $\bar{\nu}$, en cm^{-1} :

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c} \quad \text{EC. 2.2}$$

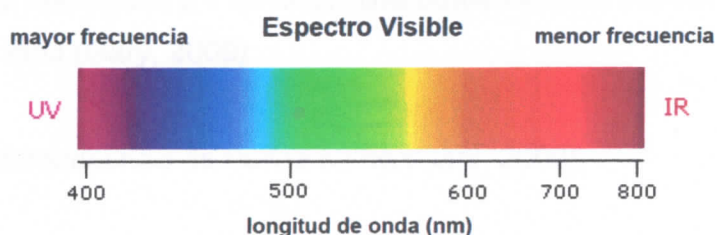
2.11.2. Radiación electromagnética

La radiación electromagnética posee cierta cantidad de energía. La energía de una unidad de radiación llamada fotón, la radiación puede concebirse al considerar la absorción de la luz en la región visible. “Se ven” los objetos con color porque transmiten o reflejan sólo una parte de la luz en esa región. Cuando la luz policromática, o luz blanca, que contiene todo el espectro de longitudes de onda en la región visible, atraviesa un objeto, el objeto absorberá ciertas longitudes de onda y transmitirá las longitudes de onda que no absorba. Esas longitudes de onda residuales transmitidas se percibirán como un color, este color es complementario a los colores absorbidos. De forma parecida, los objetos opacos absorben ciertas longitudes de onda y dejan que un color residual se refleje y “se vea” (Gary, 2009). (Figura 2.6, 2.7)



λ : Longitud de onda, $\bar{\nu}$: Número de onda, ν : Frecuencia

Figura 2.6. El espectro electromagnético; Fuente: (Gary, 2009)



Violeta: 400-420 nm; Indigo: 420-440 nm; Azul: 440 -490 nm; Verde: 490-570 nm; Amarillo: 570-585 nm; Naranja: 585-620 nm; Rojo: 620-780 nm

Figura 2.7. Espectro visible; **Fuente:** (Garcia, 2007)

La unidad de longitud de onda que se prefiere en las regiones ultravioleta y visible del espectro es el nanómetro, aunque se prefiere el micrómetro para la región del infrarrojo (Gary, 2009).

2.11.3. Ley de beer: Relación entre la cantidad de radiación absorbida y la concentración

La cantidad de radiación monocromática que absorbe una muestra obedece a la ley de Beer-Bouguer-Lambert, que comúnmente se conoce como ley de Beer. Considérese la absorción de radiación monocromática (Figura 2.8). La radiación incidente, con potencia radiante P_0 , atraviesa una solución de una sustancia absorbente con concentración c recorriendo una trayectoria b (la longitud de la celda donde se encuentra la muestra); de aquí sale como radiación emergente (o transmitida), la cual posee una potencia radiante P . Esta potencia radiante es la cantidad que miden los detectores espectrométricos, la fracción de energía radiante disminuye en forma exponencial en función de la longitud de onda, se puede escribir la siguiente forma exponencial (Gary, 2009):

$$T = \frac{P}{P_0} = 10^{-Kb} \quad \text{EC. 2.3}$$

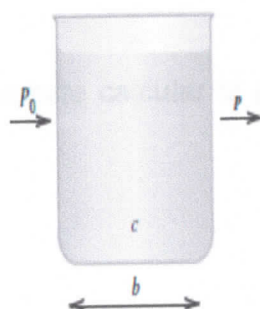


Donde: k es una constante, y T se denomina transmitancia, fracción de la energía radiante transmitida (Gary, 2009).

Porcentaje de transmitancia se define como (Gary, 2009):

$$\% T = \frac{P}{P_0} \times 100$$

EC. 2.4



P_0 : Potencia de la radiación incidente, P : Potencia de la radiación transmitida, c : Concentración, b : Distancia recorrida por la radiación.

Figura 2.8. Absorción de la radiación; **Fuente:** (Gary, 2009)



2.12. Estadística aplicada en un análisis químico

Media Aritmética

Es la suma de todas las medidas divididas por el número de medidas, la ecuación viene dada por (Miller & Miller, 2010):

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad \text{EC. 2.5}$$

Desviación estándar

Se conoce como la varianza permite calcular la propagación de errores (Miller & Miller, 2010)

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad \text{EC. 2.6}$$

Donde:

x_i : Puntos de la curva o concentración de estándares de la curva

\bar{x} : Media o promedio de los puntos de la curva o concentración de estándares de la curva

n : número de puntos de la recta o estándares

2.13. Ajuste de curvas de calibración por medio del método de mínimos cuadrados

El método de los mínimos cuadrados es la técnica más ampliamente utilizada para ajustar una recta (o una curva) a un conjunto de puntos

Ecuación de la recta

Indica como varía y , cuando x se ajusta a los valores elegidos la ecuación viene dada por (Miller & Miller, 2010):

$$y = a + bx \quad \text{EC. 2.7}$$



Donde b es la pendiente, a la ordenada en el origen y x que es la variable independiente (Miller & Miller, 2010).

Pendiente de la recta

Se puede demostrar que la recta de mínimos cuadrados viene dada por (Miller & Miller, 2010):

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \quad \text{EC. 2.8}$$

Ordenada en el origen

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad \text{EC. 2.9}$$

\bar{y} : Media de las absorbancias de la curva

b : Pendiente

\bar{x} : Media de concentraciones de la curva

Concentración de una muestra (x_0)

La variable x se despeja de la ec. 2.7 resultando como x_0 , igual pasa con y resultando y_0 (absorbancia de la muestra) la ecuación queda como (Miller & Miller, 2010):

$$x_0 = \frac{y_0 - a}{b} \quad \text{EC. 2.10}$$

Coefficiente de correlación (r)

Es el que estima la bondad con que se ajustan los puntos experimentales a una línea recta, puede demostrar que r sólo puede tomar valores en el rango $-1 \leq r \leq +1$ un valor r de -1 describe correlación negativa perfecta, es decir, todos los



puntos experimentales se encuentran en una línea recta de pendiente negativa (Miller & Miller, 2010)

Del mismo modo, cuando r es $+1$ tiene una correlación positiva perfecta, todos los puntos que se encuentran exactamente en una línea recta de pendiente positiva. Cuando no existe una correlación lineal entre x e y el valor de r es cercano a cero (Miller & Miller, 2010).

En la práctica analítica, gráficos de calibración con frecuencia dan valores r numéricos superiores a 0,99, y los valores de r aproximadamente menos de 0,90 son relativamente poco comunes, la ecuación viene dada por (Miller & Miller, 2010):

$$r = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]\}^{1/2}} \quad \text{EC. 2.11}$$

Correlación relativa

Para probar una correlación significativa es decir H_0 = correlación cero, el valor t viene dado por (Miller & Miller, 2010):

$$t = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} \quad \text{EC. 2.12}$$

El valor t calculado se compara con el valor tabulado al nivel de significación deseado utilizando un contraste t de dos colas y $n-2$ grados de libertad, si el valor calculado t es mayor que el valor tabulado, se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se concluye que existe una correlación significativa (Miller & Miller, 2010).



Errores de la pendiente y ordenada en el origen de la recta

Los errores aleatorios en los valores de la pendiente y ordenada en el origen son importantes, en primer lugar se debe de calcular el estadístico que estima los errores aleatorios en y ($s_{y/x}$), el estadístico está dado por (Miller & Miller, 2010):

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}} \quad \text{EC. 2.13}$$

Este estadístico utiliza los residuos $y_i - \hat{y}_i$, donde los valores de \hat{y}_i son los puntos sobre la recta, una vez obtenido el valor $s_{y/x}$ se puede calcular s_b y s_a (Miller & Miller, 2010).

Desviación estándar de la Pendiente (b) está dada por:

$$s_b = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{EC. 2.14}$$

Desviación estándar del Intercepto (a) está dada por:

$$s_a = s_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2}{n \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{EC. 2.15}$$

Error aleatorio para la concentración de una muestra.

Cuando un analista realiza varias lecturas para obtener el valor de y_0 , si se dispone de m lecturas entonces s_{x_0} está dada por:

$$s_{x_0} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{EC. 2.16}$$



Donde y_0 es el valor experimental de y a partir del cual se determina el valor de la concentración X_0 , Sx_0 es la desviación estándar estimada de X_0 (muestra).

Límite de confianza de la Pendiente

La ecuación para estimar los límites de confianza de la pendiente viene dada por:

$$\pm LC_{b(95\%)} = t_{(n-2)} s_b \quad \text{EC. 2.17}$$

Donde el valor t se obtiene para un nivel de confianza deseado en este caso 95% y $n-2$ grados de libertad.

Límite de confianza de Ordenada en el origen

Similarmente los límites de confianza para la ordenada en el origen viene dada por:

$$\pm LC_{a(95\%)} = t_{(n-2)} s_a \quad \text{EC. 2.18}$$

El valor t se calcula igual que los límites de la pendiente.

Límite de confianza para un valor X_0

Para calcular los límites de confianza para un valor x_0 la ecuación está dada por:

$$LC_{x_0(95\%)} = x_0 \pm t_{(n-2)} \quad \text{EC. 2.19}$$

Donde el valor t se obtiene para un nivel de confianza de 95% y $n-2$ grados de libertad.



Contraste de Dixon (Q) para un valor anómalo

Es un contraste para datos anómalos para muestras pequeñas, el contraste evalúa una medida sospechosa comparando la diferencia entre ella o la medida más próxima en tamaño, con el intervalo de las medidas.

$$Q = \frac{|v_s - v_c|}{(v_g - v_p)} \quad \text{EC. 2.20}$$

Dónde:

v_s : valor sospechoso

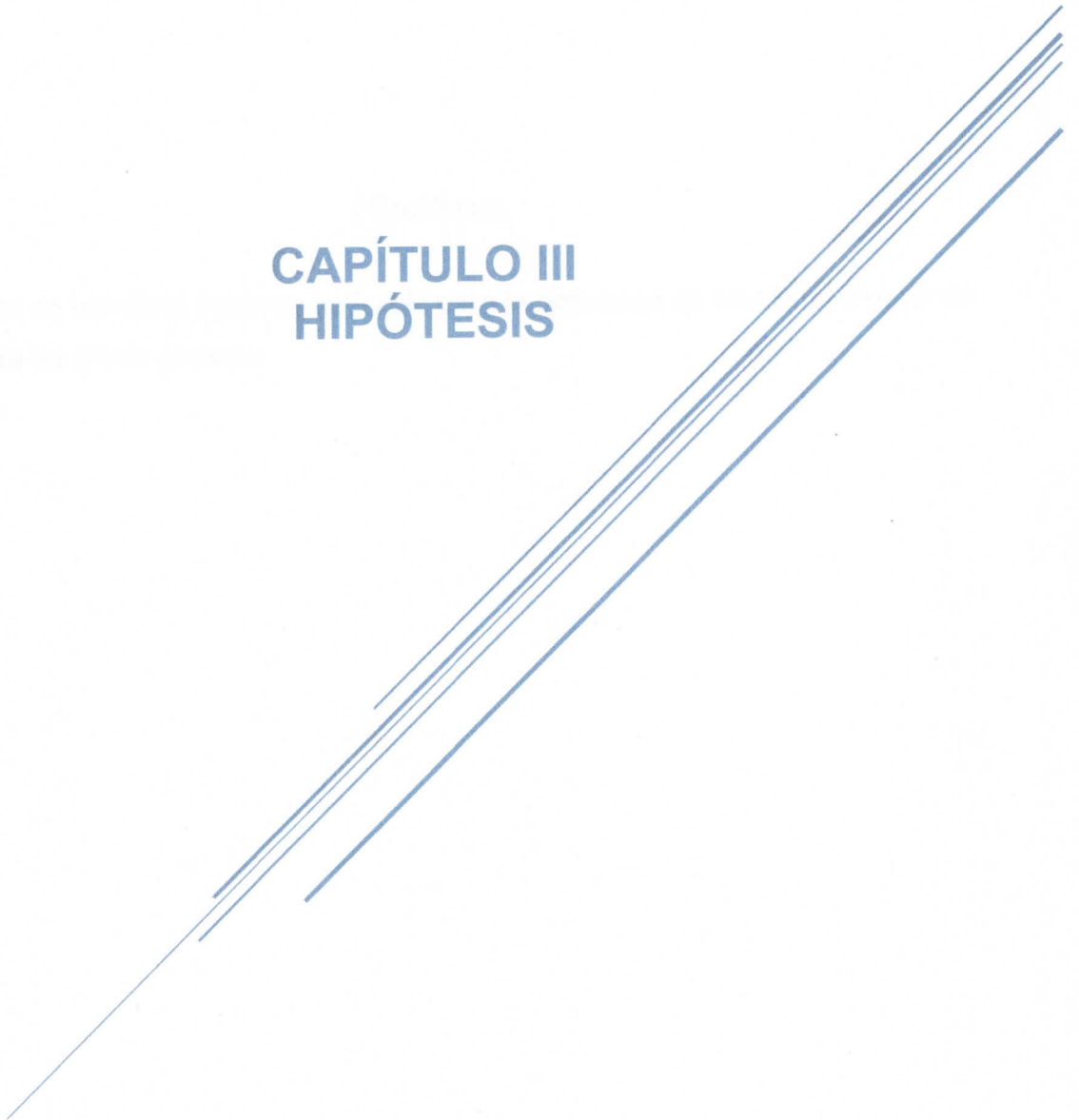
v_c : valor más cercano

v_g : valor más grande

v_p : valor más pequeño

Este contraste se usa para un valor anómalo, esto es para probar hipótesis nula (H_0) y si todas las medidas proceden de la misma población.

CAPÍTULO III HIPÓTESIS





Hipótesis

El método de hidrólisis ácida es aplicable para la obtención de bioetanol a partir de la cáscara de *Citrus sinensis*.

CAPÍTULO IV DISEÑO METODOLÓGICO





4.1. Descripción del ámbito de estudio

El estudio se realizó, en los laboratorios 101 y LAFQA del Departamento de Química de la UNAN-Managua que brindan servicios académicos y profesionales en prácticas de laboratorio, este se apoya métodos químicos estandarizados, con personal calificado para tal fin, estos laboratorios están ubicados de la Rotonda Universitaria 1c al sur, pabellón 1 y 3 (Anexo 7), Recinto Universitario Rubén Darío (RURD).

4.2. Tipo de estudio

Esta investigación es de tipo:

- Cuantitativo (Hernández Sampieri, 2006): Debido a que se realiza la interpretación de los datos numéricos obtenidos a través de la aplicación de métodos espectrofotométricos para la cuantificación de azúcares totales y etanol.
- Experimental (Pineda, 1994): Se mide el efecto de una o más variables en la cuantificación de carbohidratos totales y el contenido de bioetanol obtenido de la fermentación de cáscaras de naranja.
- Transversal (Pineda, 1994): Las operaciones de los procesos de obtención de bioetanol como: hidrólisis ácida, cuantificación de azúcares totales y bioetanol se realizó en un tiempo determinado.

4.3. Población y muestra

4.3.1. Población

La población está compuesta por 7 Kg de cáscara de *Citrus sinensis* obtenidas del mercado oriental de un puesto de venta de naranja, este mercado está ubicado en el distrito 4 de Managua, en la parte norte y en el viejo centro de la ciudad (Anexo 8).



4.3.2. Muestra

Para cada ensayo de obtención de bioetanol se tomaron muestras de 50 g de cáscara de *Citrus sinensis* sin pulpa previamente secadas a 60 °C (Anexo 16) y trituradas homogéneamente para reducir el tamaño de partícula.

4.3.2.1. Criterios de inclusión

- Cáscaras de color amarillo o verde
- Cáscaras de aproximadamente 2 mm de grosor

4.3.2.2. Criterios de exclusión

- Cáscaras marchitas
- Cáscaras en estado de descomposición

4.4. Variables y operacionalización

4.4.1. Dependientes

- Concentración de azúcares totales
- Concentración de etanol

4.4.2. Independientes

- Tiempo de hidrólisis
- Tiempo de fermentación
- Concentración de ácido sulfúrico

4.4.3. Operacionalización de las variables

Variable	Concepto operacional	Indicador	Valor	Unidad de medida
Dependientes				
Concentración de azúcares totales	Masa de azúcares presentes en el jarabe glucósido	Masa/volumen	18.610 – 36.369	mg/mL
Concentración de etanol	Masa de alcohol obtenido por fermentación y destilación	Masa/volumen	136.275 – 218.478	mg/mL
Independientes				
Tiempo de hidrólisis	Período que transcurre para el rompimiento de enlaces químicos del material lignocelulósico.	Minutos	15 - 24 - 48	min
Tiempo de fermentado	Lapso que permite la conversión de los azúcares totales en alcohol con ayuda de levaduras <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	Días	3 - 6	D
Concentración de ácido sulfúrico	Porcentaje necesario de ácido sulfúrico en un volumen de solución para producir el rompimiento de los enlaces del material lignocelulósico y originar la transformación de los azúcares.	Porcentaje	5 - 7	%



4.5. Materiales y métodos

4.5.1. Materiales para recolectar información

De un aproximado de 45 documento consultados, se seleccionaron aquellos que contenían información relevante para este estudio. Se realizó una revisión bibliográfica de informes, artículos de revistas científicas, libros, tesis y proyectos. De la bibliografía consultada se tomaron 17 documentos.

4.5.1.1. Captación de datos

Los criterios de búsqueda fueron en base a palabras claves: biocombustibles, biomasa, bioetanol, combustibles fósiles, medioambiente, cáscara de naranja, hidrólisis ácida.

4.5.2. Materiales para procesar información

- Microsoft Word 2013
- Microsoft Power Point 2013
- Microsoft Excel 2013
- Microsoft paint 2013
- Chems sketch
- Minitab 16

4.5.3. Método de análisis

Hidrólisis ácida, fermentación y destilación

En el proceso de hidrólisis ácida se pesan tres muestras de 50 g de cáscaras de naranja molidas, seguido se realiza la eliminación de lignina, sumergiendo las muestras en una solución de NaOH, se deja reposar, posteriormente se adiciona sulfato de calcio (CaSO_4) y se deja en reposo por 3 horas para la deslignificación.



Se filtra la muestra separando el material sólido y se desecha el líquido (Anexo 9,15).

La hidrólisis ácida se lleva a cabo, adicionando ácido sulfúrico (H_2SO_4) por cada 50 gramos de cáscara, se calienta a una temperatura de $100^{\circ}C$, durante 15 minutos, se deja enfriar y se filtra nuevamente para separar el sólido del líquido y se desecha el sólido, luego se ajusta el pH a 4.5 – 5 (Anexo 9,15).

Se determina el contenido de azúcares totales por espectrofotometría de luz ultravioleta visible (EFUV) en los jarabes obtenidos, utilizando el método Fenol-Ácido Sulfúrico de Duboi.

Para el proceso de fermentación se prepara una solución de fosfato de amonio $(NH_4)_3PO_4$ al 0.25% en un frasco color ámbar, añadiendo azúcar, se procede a inocular con levadura *Saccharomyces cerevisiae*, la fermentación se realiza en un Erlenmeyer en condiciones anaerobias por 3 y 6 días (Anexo 9,15).

El jarabe pasa a destilarse a una temperatura de $78.4^{\circ}C$ para obtener bioetanol, luego se cuantifica la concentración de alcohol obtenido de la destilación, por el método colorimétrico de determinación de etanol por espectrofotometría de luz ultravioleta visible (EFUV) (Flujograma 4.1), (Anexo 9,15).

Método Fenol- Ácido Sulfúrico de Dubois

Para la determinación de carbohidratos se realizó una curva con patrones con concentraciones diferentes (estándares) (Anexo 10), este método es colorimétrico según Suzanne (Nielsen, 2010) los carbohidratos simples reaccionan en presencia de ácido fuerte y calor para generar derivados furano que se condensan con fenol para formar compuestos estables de color amarillo-oro o como afirman Capelo y otros (Capelo Armijos & Pérez Ulloa, 2011) los azúcares simples (monosacáridos) presentarán un color amarillo-naranja muy estable luego de que reaccionan con el fenol en presencia de ácido sulfúrico concentrado



Se preparan los estándares (por duplicado) y muestras, adicionando la solución de fenol, luego se adiciona ácido sulfúrico concentrado y se deja reposar, cumplido el tiempo se determina el contenido de azúcares totales en un espectrofotómetro de luz ultravioleta visible (EFUV), (Flujograma 4.1).

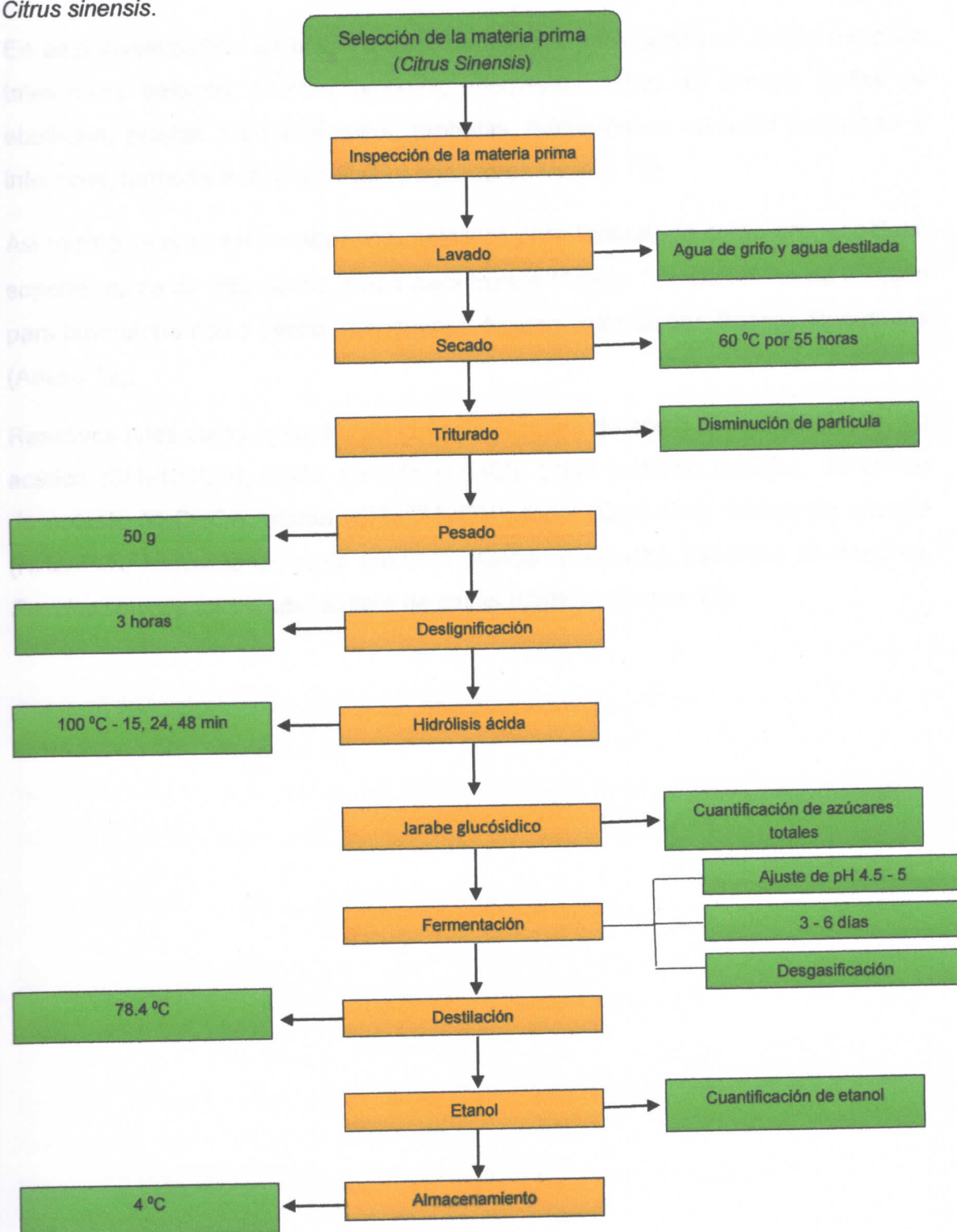
Determinación de etanol por el método colorimétrico

Para la cuantificación de etanol se realizó una curva con patrones con concentraciones diferentes (estándares), (Anexo 11,17), según (Sumbhate, 2012) la cuantificación colorimétrica se basa en la formación de iones de cromato de color verde los cuales se forman al reaccionar el etanol con dicromato de potasio en presencia de ácido sulfúrico y tampón de acetato.

Se procede a preparar estándares (por duplicado) y muestras, se adiciona una alícuota de dicromato de potasio, buffer de acetato, y ácido sulfúrico se agita suavemente para homogenizar, luego se deja reposar 120 min cumplido el tiempo establecido se determina la concentración de etanol en un espectrofotómetro de luz ultravioleta visible (EFUV), (Flujograma 4.1).



Flujograma 4.1. Diagrama de flujo para la obtención de bioetanol a partir de cáscara de *Citrus sinensis*.



Fuente: Autor del trabajo investigativo



4.5.3.1. Materiales y reactivos

En esta investigación se utilizó cristalería clase A para cada uno de los métodos tales como balones, buretas, beakers, erlemeyers, tubos de ensayo, perlas de ebullición, pipetas, pipetas Pasteur, probetas, refrigerantes, conector superiores e inferiores, termómetros, plato Petri y agitadores (Anexo 12).

Así mismo se emplearon utensilios metálicos para laboratorio como aro, espátula, soporte, pinza de tres dedos, pinza para bureta (Anexo 12). Utensilios de plástico para laboratorio como piseta, mangueras, frascos color ámbar, frascos muestrales (Anexo 12).

Reactivos tales como agua destilada (H_2O), acetato de sodio ($CH_3-COONa$), ácido acético (CH_3-COOH), ácido clorhídrico (HCl), ácido sulfúrico (H_2SO_4), dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), etanol (CH_3-CH_2-OH), fenol (C_6H_5-OH), fosfato de amonio ($(NH_4)_3PO_4$), hidróxido de sodio ($NaOH$), glucosa ($C_6H_{12}O_6$), sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$), *Saccharomyces cerevisiae*, sulfato de calcio ($CaSO_4$) (Anexo 12).



5.1. Hidrólisis ácida

El proceso de hidrólisis ácida se realizó midiendo distintos factores como: tiempo de hidrolizado, tiempo de deslignificación, porcentaje de ácido sulfúrico (5 - 7 %) y temperatura constante (100 °C) (Anexo 9, 16). Para la obtención de jarabe glucosídico se determinó la concentración de azúcares totales mediante el método fenol ácido sulfúrico de Dubois (Capelo Armijos & Pérez Ulloa, 2011), (Nielsen, 2010), (Anexo 10,16).

Las concentraciones de ácido sulfúrico utilizadas en la hidrólisis ácida fueron de 5 y 7%, esto en base a la revisión bibliográfica de estudios como de Lesly Tejeda (Tejeda, y otros, 2010), Mario R (Alvear, y otros, 2009) y Kiara Montiel (Montiel Centeno & Romero Castro, 2015) quienes comprobaron que dichas concentraciones fueron las óptimas para la obtención del bioetanol.

5.2. Fermentación

Los factores y las condiciones para el proceso de fermentación incluyeron la neutralización de la muestra con hidróxido de sodio al 12.5 N, control del tiempo de hidrolizado, porcentaje de ácido sulfúrico (5 - 7 %), temperatura (28 °C), masa de *Saccharomyces cerevisiae* y tiempo de fermentación para la obtención de bioetanol por medio de destilación. El producto obtenido se cuantificó mediante el método colorimétrico para determinación de etanol (Diagrama 5.2).

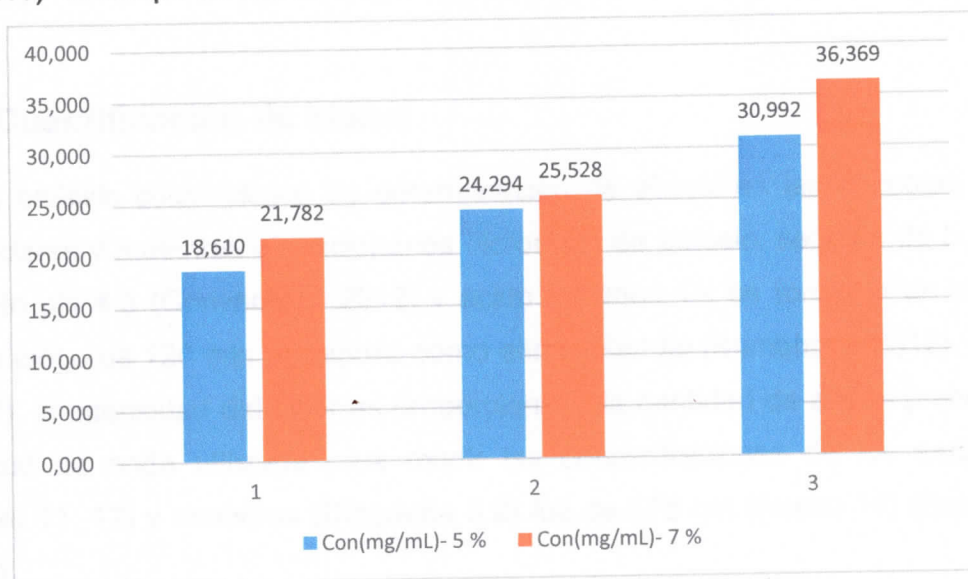
5.3. Cuantificación azúcares totales

En el análisis de fenol ácido sulfúrico de Dubois los estándares y muestras al adicionarles fenol seguido de ácido sulfúrico se tornaron de un color amarillo naranja (Anexo 10, 16), la intensidad del color naranja es proporcional a la cantidad de carbohidratos presente (Capelo Armijos & Pérez Ulloa, 2011), la longitud de onda utilizada para medir las concentraciones de los estándares (Anexo 10, 13, 16) y muestras (Diagrama 5.1) fue de 488 nm (Anexo 13).



Los estándares y las muestras se hicieron por duplicado para la realización de dos curvas de cuantificación y así escoger la curva con los mejores resultados e iniciar la cuantificación de las muestras de jarabe glucosídico para obtener resultados confiables en la lectura.

Diagrama 5.1. Concentraciones de jarabe glucosídico (5% y 7% de ácido sulfúrico) vs tiempo de hidrolizado



T: Tiempo de hidrólisis; 1: T- 15 min; 2: T- 24 min; 3: T- 48 min

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Comparando la variable tiempo de hidrolizado en relación a la concentración de ácido sulfúrico se observa que a una concentración de 7% de ácido sulfúrico, la concentración de azúcares va aumentando en dependencia del tiempo de hidrólisis esto significa que a mayor tiempo de hidrólisis mayor rompimiento de enlaces glucosídico. Así mismo ocurre con las muestras que fueron tratadas con ácido sulfúrico al 5 %. De lo anterior se puede decir que concentración de azúcares es directamente proporcional al tiempo de hidrolizado.



Comparando las concentraciones de ácido sulfúrico empleadas, al 5% y al 7%, se observa un incremento en las concentraciones de los azúcares totales en muestras tratadas con ácido sulfúrico al 7%. Con una diferencia entre ambas de 5.377 mg/mL para la muestra tratada con un tiempo de hidrolizado de 48 minutos. Resultados similares se observan para las muestras con un tiempo de hidrolizado de 15 y 24 minutos.

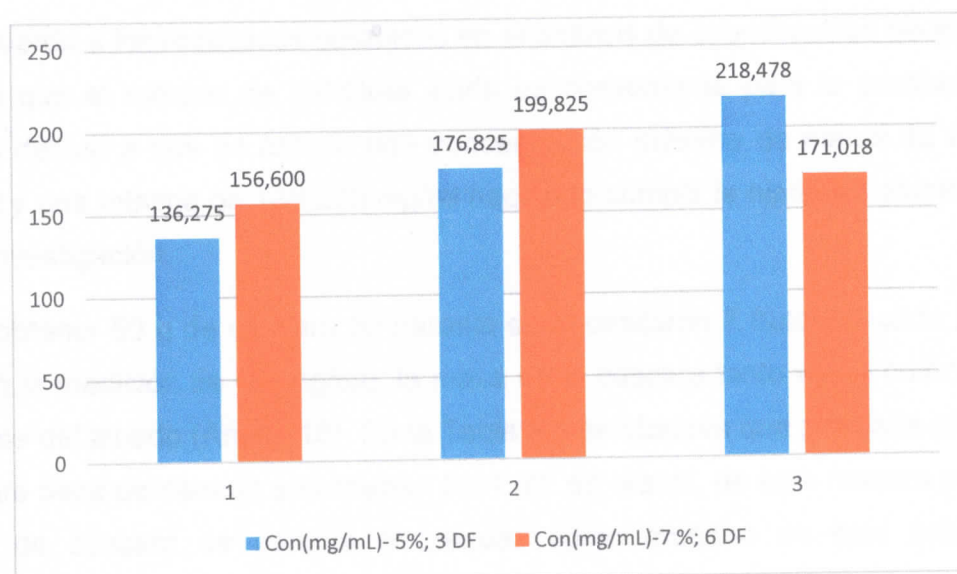
5.4. Cuantificación de etanol

En el análisis colorimétrico de determinación de etanol en las alícuotas de los estándares y muestras al adicionarles dicromato de potasio, seguido de buffer de acetato pH 4.3 (Convention, 2012) y ácido sulfúrico 1N se tornaron de un color verde luego de 120 min de reposo como afirma Sandip (Sumbhate, 2012), (Anexo 11,17), la intensidad del color es proporcional a la cantidad de etanol presente, la longitud de onda utilizada para medir las concentraciones de los estándares (Anexo 11, 17) y muestras (Diagrama 5.2) fue de 578 nm (Anexo 14) (Sumbhate, 2012).

Las alícuotas de los estándares y las muestras se hicieron por duplicado para la realización de dos curvas de cuantificación y así escoger la curva con los mejores resultados e iniciar la cuantificación de las muestras de etanol para obtener resultados confiables.



Diagrama 5.2. Concentraciones de etanol en las muestras (5% y 7% de ácido sulfúrico) vs tiempo de fermentado



T: Tiempo de hidrólisis; 1: T- 15 min; 2: T- 24 min; 3: T- 48 min

DF: Días de fermentación

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Comparando la variable tiempo de fermentación en relación a la concentración de ácido sulfúrico se puede observar que a una concentración de 5% de ácido sulfúrico, la concentración de etanol va aumentando en dependencia del tiempo de fermentación, esto significa que a mayor tiempo de fermentación mayor concentración de etanol. Así mismo ocurre con las muestras que fueron tratadas con ácido sulfúrico al 7 %, con excepción de la muestra 3.

En comparación con las muestras tratadas con ácido sulfúrico al 5% y 7% hay un aumento en las concentraciones, con una diferencia de 23 mg/mL para la muestra tratada con un tiempo de hidrolizado de 24 min. En relación a la muestra tratada con 15 min de hidrolizado la diferencia entre ambas concentraciones es de 20.325 mg/mL. La muestra 3 tiene una concentración baja, esto puede deberse a problemas en la fermentación, de lo anterior se observa que la concentración de



etanol es proporcional a las concentraciones de jarabe y que ambas condiciones de ácido sulfúrico son efectivas para la obtención de etanol.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de cuantificación de etanol se afirma que el método de hidrólisis ácida es conveniente para la producción de etanol debido a que se obtuvo una concentración máxima de etanol de 218.478 mg/ml y una mínima de 136.275 mg/ml haciendo cumplir la hipótesis planteada en esta investigación.

Para obtener 50 g de cáscara de naranja se necesitaron 7 frutos. A cada fruto se realizó la medición de la longitud, la masa de la cáscara tanto verde como seca y la masa del albedo (Anexo 18). En la Tabla 5.1 se observa que por cada gramo de cáscara seca de naranja se obtienen 0.14 mL de etanol, de esta manera por cada 50 g de cáscara de naranja empleadas como muestra en este estudio se obtuvieron 7 mL de etanol.

Tabla 5.1. Producción de etanol por masa seca de cáscara de naranja

Fruto	Diámetro Promedi o (cm)	Peso promedi o (g)	Peso sin cáscara promedi o (g)	Peso sin flavedo promedi o (g)	Peso de cáscara promedi o (g)	Peso de cáscara seca promedi o (g)	Peso de albedo (g)	Millilitros de alcohol/g de cáscara seca	Millilitros de alcohol/50 g de cáscara seca	Nº de naranja/50 g de cáscara seca
Naranja	7 vertical / horizontal 7.3	232.17	198.69	179.06	33.48	7.24	19.63	0.14	7	7

Fuente: Autor del trabajo investigativo



5.5. Análisis de marcos de siembra y producción de etanol

Por medio de los marcos de siembra se puede estimar la cantidad de plantas sembradas en una hectárea (ha), producción o rendimiento a través de las cosechas y años de desarrollo de la planta, y lo que generaría de residuo para la obtención de bioetanol (Anexo 20).

Siembra de cultivo tradicional

A manera de ejemplo, basándose en datos de marcos de siembra (Anexo 20) y volumen de alcohol obtenido por gramos de cáscara de naranja (Tabla 5.1), se puede calcular un aproximado de cantidad de alcohol que se podría producir con los residuos de cáscara por hectárea sembrada de naranja a los 3 años de siembra con un sistema de cultivo tradicional de 204 pl/ha. Esto resulta en 6,120 ml (6.120 L) de etanol producido por cada hectárea.

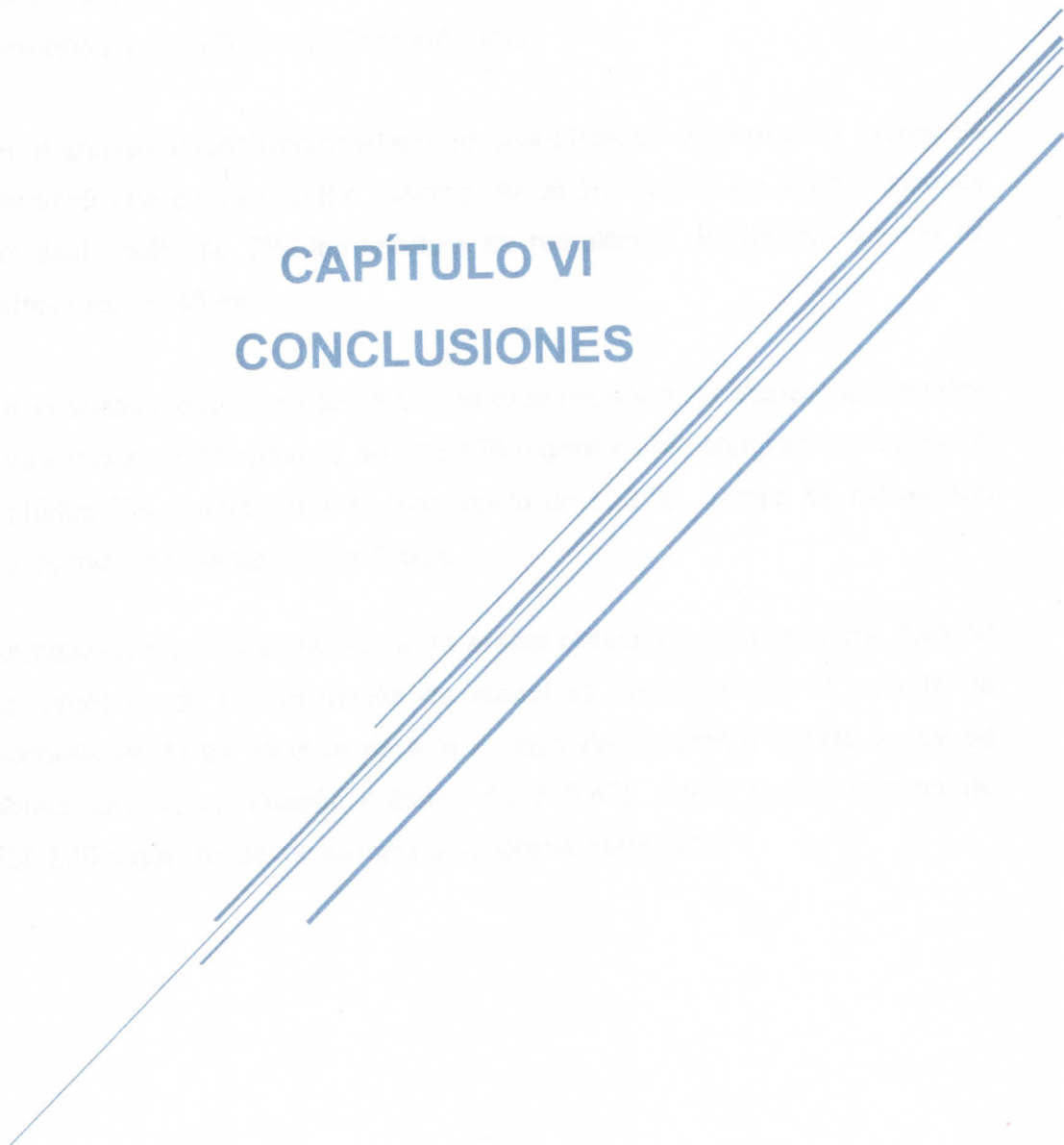
Siembra de cultivo de alta densidad

Basándose en datos de marcos de siembra (Anexo 20) y volumen de etanol obtenido por gramos de cáscara de naranja (Tabla 5.1), se puede calcular un aproximado de cantidad de etanol que se podría producir con los residuos de cáscara por hectárea sembrada de naranja a los 3 años de siembra con un sistema de cultivo tradicional de 408 pl/ha. Esto resulta en 12,240 ml (12.240 L) de alcohol producido por cada hectárea.

Con los marcos de siembra de alta densidad y con edad de 7 años (Anexo 20) produciría un estimado 183,600 ml (183.600 L) por ha que equivaldría a 1.155 barril de etanol sumando las combinaciones de combustibles como E95, E85, E80 podría una futura demanda nacional de combustibles de esos tipos.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES





Con base al análisis de resultados de la obtención de etanol a partir de cáscara de *Citrus sinensis* realizado en el presente trabajo y cumpliendo con los objetivos planteados se obtienen las siguientes conclusiones:

1. Las condiciones óptimas operacionales de hidrólisis ácida son: concentración de ácido sulfúrico 7%, tiempo de hidrolizado 48 min, temperatura para el hidrolizado 100 °C, neutralización con hidróxido de sodio 12.5 N, pH 5, fermentación con masa de levadura *Saccharomyces cerevisiae* 0.5 g y 6 días de fermentación.
2. En el análisis espectrofotométrico de cuantificación de azúcares totales se identificó una concentración máxima de 36.369 mg/ml en las condiciones de: ácido sulfúrico 7%, temperatura de hidrolizado de 100 °C, tiempo de hidrolizado de 48 min.
3. En el análisis espectrofotométrico de cuantificación de etanol, se identificó una concentración máxima de 218.478 mg/ml en las condiciones de: ácido sulfúrico 7%, temperatura de hidrolizado de 100 °C, tiempo de hidrolizado de 24 min y fermentación de 6 días.
4. Analizando las concentraciones de etanol obtenidas por medio del método colorimétrico de determinación de etanol se concluye que el método de hidrólisis ácida es efectivo para la producción de etanol debido a que se obtuvo una concentración máxima de 218.478 mg/ml y una mínima de 136.275 mg/ml haciendo cumplir la hipótesis planteada.



De acuerdo a las competencias de esta institución del nivel superior

1. Conocer los fundamentos teóricos y prácticos de la enseñanza de la lengua castellana en el nivel superior, así como los procesos de enseñanza y aprendizaje de esta disciplina.

2. Realizar la enseñanza de la lengua castellana en el nivel superior, aplicando los conocimientos teóricos y prácticos adquiridos en la formación profesional.

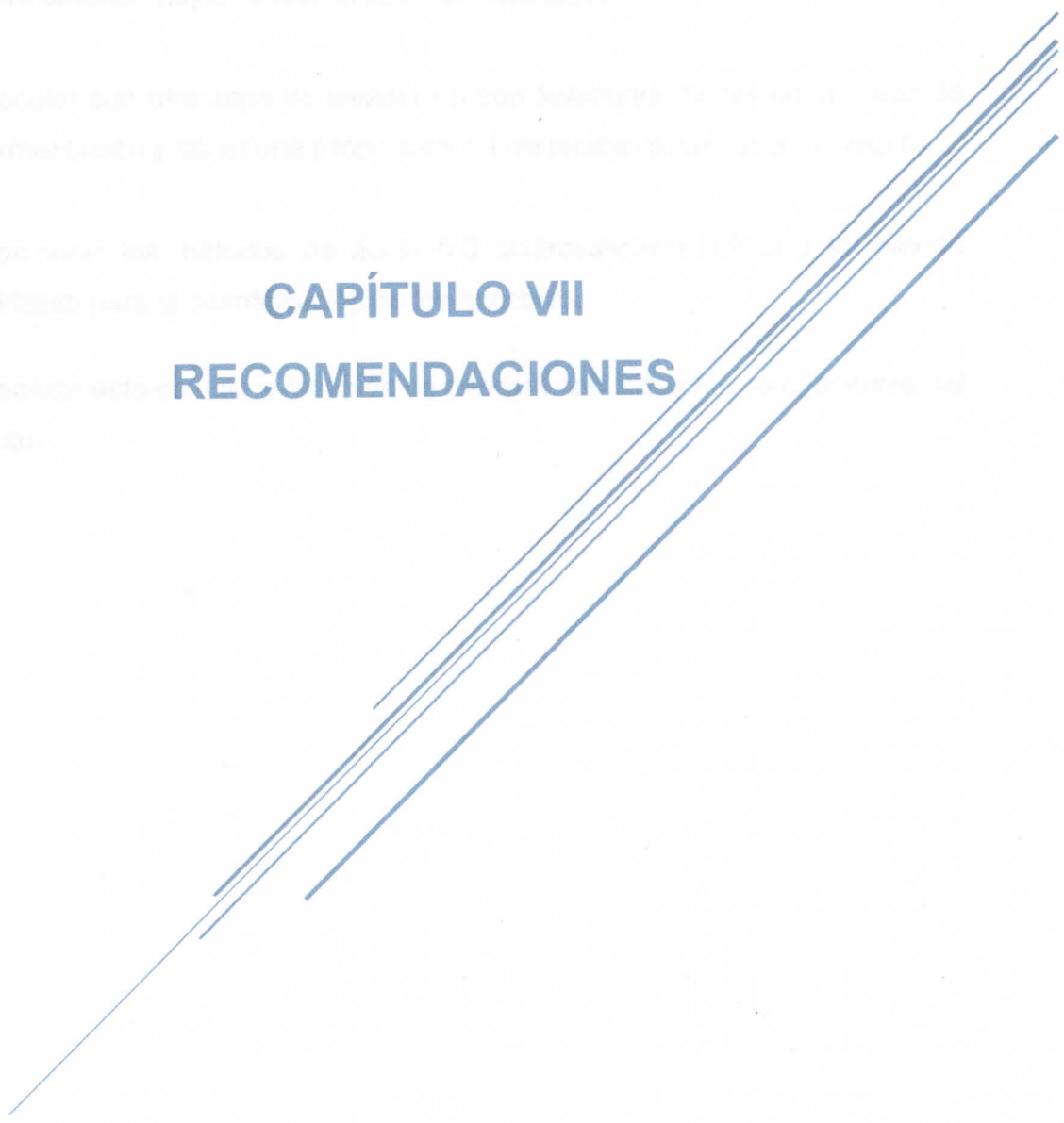
3. Realizar la enseñanza de la lengua castellana en el nivel superior, aplicando los conocimientos teóricos y prácticos adquiridos en la formación profesional, así como los recursos tecnológicos disponibles.

4. Conocer los fundamentos teóricos y prácticos de la enseñanza de la lengua castellana en el nivel superior, así como los procesos de enseñanza y aprendizaje de esta disciplina.

5. Realizar la enseñanza de la lengua castellana en el nivel superior, aplicando los conocimientos teóricos y prácticos adquiridos en la formación profesional.

CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES





De acuerdo a las conclusiones de esta investigación se recomienda lo siguiente:

1. Caracterizar el material lignocelulósico (cáscara de naranja) con lo siguiente: humedad, ceniza, porcentaje de celulosa, hemicelulosa, lignina y pectina.
2. Realizar la hidrólisis ácida en un autoclave variando temperatura y presión para obtener mayor rendimiento en el hidrolizado.
3. Inocular con otra sepa de levadura o con levaduras mixtas en la etapa de fermentación y hacer una proporción 1:1 de jarabe glucosídico y levadura.
4. Comparar los métodos de ácido 5.3 dinitrosalicílico (DNS) y el método utilizado para la cuantificación de los azúcares.
5. Realizar este estudio a residuos de cáscara con todos los componentes del fruto.



Amigo, C. (1977). *El rol del médico en la atención de la salud pública*.
Buenos Aires: Editorial Médica.

Amigo, C. (1978). *El rol del médico en la atención de la salud pública*.
Buenos Aires: Editorial Médica.

Amigo, C. (1979). *El rol del médico en la atención de la salud pública*.
Buenos Aires: Editorial Médica.

Amigo, C. (1980). *El rol del médico en la atención de la salud pública*.
Buenos Aires: Editorial Médica.

Amigo, C. (1981). *El rol del médico en la atención de la salud pública*.
Buenos Aires: Editorial Médica.

Amigo, C. (1982). *El rol del médico en la atención de la salud pública*.
Buenos Aires: Editorial Médica.

Amigo, C. (1983). *El rol del médico en la atención de la salud pública*.
Buenos Aires: Editorial Médica.

Amigo, C. (1984). *El rol del médico en la atención de la salud pública*.
Buenos Aires: Editorial Médica.

Amigo, C. (1985). *El rol del médico en la atención de la salud pública*.
Buenos Aires: Editorial Médica.

Amigo, C. (1986). *El rol del médico en la atención de la salud pública*.
Buenos Aires: Editorial Médica.

Amigo, C. (1987). *El rol del médico en la atención de la salud pública*.
Buenos Aires: Editorial Médica.

Amigo, C. (1988). *El rol del médico en la atención de la salud pública*.
Buenos Aires: Editorial Médica.

Amigo, C. (1989). *El rol del médico en la atención de la salud pública*.
Buenos Aires: Editorial Médica.

BIBLIOGRAFÍA



- Arroyo Orbegoso, A. G. (2/02/16). Producción de enzimas pectinasas por actinomycetos en cultivo sumergido utilizando pectina y cáscara de naranja.
- Álvarez, M. (2009). Desarrollo histórico-tecnológico, mercados actuales y comercio internacional. *Biocombustibles* vol.359, p 63-65.
- Alvear et al. (2009). Estudio de la hidrólisis acida de cáscara de naranja citrus sinensis para la obtención de etanol. Cartagena, Cartagena de Indias, Colombia.
- Avilán, L. R. (1983). Estimación de los rendimientos en algunos frutales: Aguacatero, Mango y Naranja. *FONAIAP*.
- Avilán, L. R., & Ruiz, j. (1999). 70 Toneladas de naranja por hectárea en la citricultura nacional. ¡una realidad! *FONAIAP*.
- Biocombustibles, I. S. T. (2007). Biodiesel-Bioetanol. *Biocombustible biodiesel-bioetanol*. Bogota, Colombia.
- Cerón Salazar, I., & Cardona Alzate, C. (2011). Evaluación del proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de cáscara de naranja. *Ingeniería y Ciencia*. p. 65-86.
- Convention, T. U. (2012). The United States Pharmacopeial Convention.
- Cruz, M. G. (2013). Uso de un hidrolizado de cáscaras de naranja-toronja y dos cepas de levadura para la obtención de bioetanol. *Ingeniería Ambiental*, Facultad de Ciencias Químicas., Universidad Veracruzana.
- Demain, A. L. (2005). Cellulase, Clostridia, and Etanol. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, Vol. 69, nº. 1., p 124-154,.
- Díaz, M. P. (2011). Simulation of integrated first and second generation bioetanol production from sugarcane: comparison between different biomass pretreatment methods. *J Ind Microbiol Biotechnol*, vol 38, p 955-966.



- production from sugarcane: comparison between different biomass pretreatment methods. *J Ind Microbiol Biotechnol*, vol 38, p 955-966.
- Fajardo C, E. E. (2008). Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyce cerevisiae*. Bogota, Colombia.
- FAO. (2008). El estado mundial de la agricultura y la alimentación. p 64-65.
- FAO. (2012). Frutos cítricos frescos y elaborados. *Estadísticas anuales*.
- Gary, D. C. (2009). *Química analítica 6ta ed*. Washington: McGraw Hill company.
- Garzón Castaño, S. C., & Hernández Londoño, C. (2009). Estudio comparativo para la producción de etanol entre *Saccharomyces cerevisiae* silvestre, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 Y *Candida utilis* ATCC 9950. Pereira.
- Gerena Baron, F. M. (2013). Obtención de jarabes azucarados a partir de la hidrólisis química de residuos de cáscaras de naranja (*citrus sinensis* l var valencia) y papa (*solanum tuberosum*) variedad diacol capiro (r-12) para ser empleados como edulcorantes en la industria de alimento.
- González Peláez, C. A. (2014). Identificación de Materiales de Naranja para la Agroindustria de Jugos y Concentrados de Exportación, Adaptados a las Condiciones Agroecológicas de la Zona Cafetera Central. colombia.
- Haim, L. (4/05/10). *Las cáscaras fuentes de biocombustible*.
- Hallenbeck. (2012). *Advanced Bioethanol Production Microbial Technologies in Advanced Biofuels Production*. New York: Springer: Ed.
- Hernández Sampieri, R. (2006). *Metodología de la investigación 4ta ed*. México DF: McGaw Hill Interamericana.
- Herrera, D. R. (2006). *Diseño preliminar de un proceso de obtención de etanol a partir de material lignocelulósico de frutas, aplicando la tecnología de hidrólisis térmica catalizada*. bucaramanga, facultad de ingenierías fisicoquímicas, universidad industrial de santander.



- IICA. (2007). Guía práctica para la exportación de naranja a los EE.UU. IICA, p 9-10.
- Laureano, P. T. (2005). Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. vol 124(nº 1-3), p 1081-1099.
- Marín, J. L. (2010). INDEX. *Planta de obtención de bioetanol, estudio técnico-económico y estudio de impacto ambiental*.
- Miller, J. N., & Miller, J. C. (2010). *Estadística y quimimetría para química analítica 6ta Ed.* Londres: Pearson educación S.A.
- Monsalve, Medina & Ruiz, J. (2006). Producción de etanol a partir de la cáscara de banano y de almidón de yuca. *Dyna Revista Facultad de Minas*, p 21-27.
- Montiel Centeno, K. Y., & Romero Castro, L. d. (2015). Obtención de bioetanol a partir de la coronta (olote) del maíz variedad hs-5, por el método de hidrólisis ácida diluida - fermentación separada. Managua, Nicaragua.
- Moreno, I. (2006). Aprovechamiento De Residuos Agrarios.
- Navarro, A. A. (2013). Etanol a partir de biomasa lignocelulosica.
- Nielsen, S. S. (2010). *Food analysis laboratory manual*. EE.UU: springer.
- Nodarse, M. T. (2007). Tendencias actuales en la producción de bioetanol. Facultad de Ingeniería, Universidad Rafael Landívar, Cuba: TEC Landívar.
- OCED-FAO. (2013). Perspectivas agrícolas. p 113-118.
- Pineda, E. B. (1994). *Metodología de la investigación 2da ed.* Washigton, DC: Copyright.
- Rueda Martín, D. C., & Herrera Hernández, W. J. (2006). Diseño preliminar de un proceso de obtención de etanol a partir de material lignocelulósico de frutas,



aplicando la tecnología de hidrólisis térmica catalizada. Bucarmanga, Colombia.

Sánchez, A. G. (2010). Producción de bioetanol a partir de subproductos agroindustriales lignocelulósicos. *Tumbanga*, vol 5, p 61-91.

Tejeda et al. (2010). Produccion de bioetanol a partir de la fermentación alcohólica de jarabes glucosados derivados de cascara de naranja y piña. *Educación en ingeniería*, vol 10, p 120-125.

Valencia & Román, F. (2004). La fibra dietaria como alimento funcional. *VITAE*, vol 11, p 12-17.

Viñals Verde, M., & Bell García, A. (2012). ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar. Obtención de etanol a partir de biomasa lignocelulósica. *ICIDCA (Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar Cuba)*, vol 46, nº 1, p 11 .



AGUIAR, J. (2012). *La geografía en el siglo XX*.
Madrid: Alianza editorial.

ANDRÉS, J. (2012). *La geografía en el siglo XX*.
Madrid: Alianza editorial.

BIDART, J. (2012). *La geografía en el siglo XX*.
Madrid: Alianza editorial.

CAPDE, J. (2012). *La geografía en el siglo XX*.
Madrid: Alianza editorial.

ENRIQUETA, J. (2012). *La geografía en el siglo XX*.
Madrid: Alianza editorial.

GARCÍA, J. (2012). *La geografía en el siglo XX*.
Madrid: Alianza editorial.

GOOGLE, J. (2012). *La geografía en el siglo XX*.
Madrid: Alianza editorial.

HARRIS, J. (2012). *La geografía en el siglo XX*.
Madrid: Alianza editorial.

PEREZ, J. (2012). *La geografía en el siglo XX*.
Madrid: Alianza editorial.

SLACK, J. (2012). *La geografía en el siglo XX*.
Madrid: Alianza editorial.

WEBGRAFÍA





- Academia.edu. (2016). Academia: Recuperado el 30/06/16 de http://www.academia.edu/8572598/Carbohidratos_o_Gl%C3%BAcidos_-_Estructura_Qu%C3%ADmica
- Andalucia, J. d. (2012). *Asesor de exploraciones para la sostenibilidad*. Obtenido de Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural: Recuperado el 28/04/15 de http://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/sostenibilidad/03_empleo_insumos/03_biomasa/02_Biomasa/
- Bidi.uson.mx. (2010). *Tesis monografica de la Composición de la naranja*. Sonora, México. Obtenido de Bidi.uson.mx/tesis.aspx: Recuperado el 7/05/15 de <http://tesis.uson.mx/digital/tesis/docs/20829/capitulo2.pdf>
- Capelo Armijos, M. J., & Pérez Ulloa, M. E. (2011). *dspace*. Recuperado el 23/10/15 de <http://dspace.ucuenca.edu.ec>
- Energía un desafío. (2015). *Energía un desafío. Biomasa urbana*. Recuperado el 28/04/15 en <http://www.energiaundesafio.cl/index.php/fuentes-recursos-renovables/energia-de-biomasa/biomasa-de-residuos-solidos-urbanos>
- Garcia, T. (2007). *Universidad de Huelva*. Obtenido de Uhu.es: Recuperado 28/07/16 <http://www.uhu.es/tamara.garcia/quiml/apuntes/TEMA%203.pdf>
- Google maps. (2015). *Google maps*. Obtenido de recuperado el 8/09/15 de <https://www.google.com.ni/maps/search/mapa/@12.1211861,86.2804681,14z/data=!3m1!4b1>
- Hernández, L. R. (2003). *BLOG UDLAP*. Obtenido de Bioetanol: Recuperado el 20/04/15 en <http://blog.udlap.mx/blog/2013/06/bioetanol/>
- Pellas, G. (2014). *SER San Antonio*. Recuperado el 27/03/16 <http://sersanantonio.com/>
- Sierra Herrera, A. (2012). *COFCO*. Recuperado el 21/04/16 <http://www.cofco.org/ficheros/Naranja2.pdf>



Solars, A. (2013). *Aplicacions Solars*, S.L. Recuperado el 28/04/15 en <http://www.aplicasolars.com/biomasa-forestal.html>

Sumbhate, s. e. (2012). *academia.edu*. Recuperado el 23/10/15, de http://www.academia.edu/1934057/Colorimetric_Method_for_the_Estimation_of_Ethanol_in_Alcoholic-Drinks

USDA. (2009). *United States Department of Agriculture*. Obtenido de USDA: Recuperado el 10/02/16 de <https://ndb.nal.usda.gov/>

Wepscolar. (2015). *Wepscolar*. Obtenido de Bioetanol: Proceso de fabricación y su importancia: Recuperado el 12/04/15 en <http://www.webscolar.com/bioetanol-proceso-de-fabricacion-y-su-importancia>.

Zamora, A. (2016). Obtenido de *scientific psychic*: Recuperado el 30/06/16 de <http://www.scientificpsychic.com/fitness/carbohidratos2.html>

ANEXOS

ANEXOS

Fusion: 0504 / 0504



Anexo 1

Tabla 1.1. Valor nutricional por cada 100 g de naranja (*C. Sinensis*)

Energía 50 kcal 200 kJ	
Carbohidratos	11.57 g
Azúcares	9.35 g
Fibra alimentaria	2.4 g
Grasas	0.12 g
saturadas	0.015 g
monoinsaturadas	0.023 g
poliinsaturadas	0.025 g
Proteínas	0.94 g
Agua	86.75 g
Vitamina A	11 µg (1%)
β-caroteno	71 µg (1%)
Tiamina (Vit. B1)	0.087 mg (7%)
Riboflavina (Vit. B2)	0.040 mg (3%)
Niacina (Vit. B3)	0.282 mg (2%)
Ácido pantoténico (B5)	0.250 mg (5%)
Vitamina B6	0.060 mg (5%)
Ácido fólico (Vit. B9)	30 µg (8%)
Vitamina B12	0 µg (0%)
Vitamina C	53.2 mg (89%)
Vitamina D	0 µg (0%)
Vitamina E	0.18 mg (1%)
Vitamina K	0 µg (0%)
Calcio	40 mg (4%)
Hierro	0.10 mg (1%)
Magnesio	10 mg (3%)
Manganeso	0.025 mg (1%)
Fósforo	14 mg (2%)
Potasio	181 mg (4%)
Sodio	0 mg (0%)
Zinc	0.67 mg (7%)

Fuente: (USDA, 2009)



Anexo 2

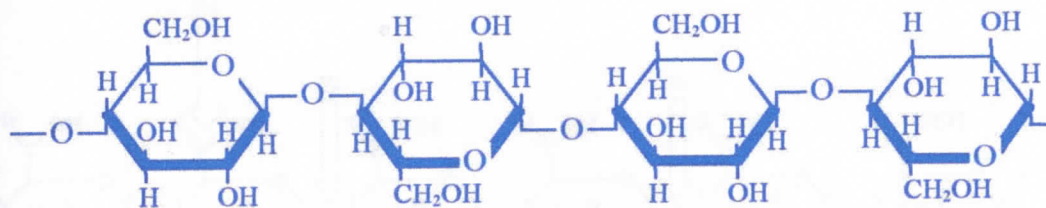


Figura 2.1. Proyección de Haworth de celulosa; **Fuente:** (Academia.edu, 2016)

Anexo 3

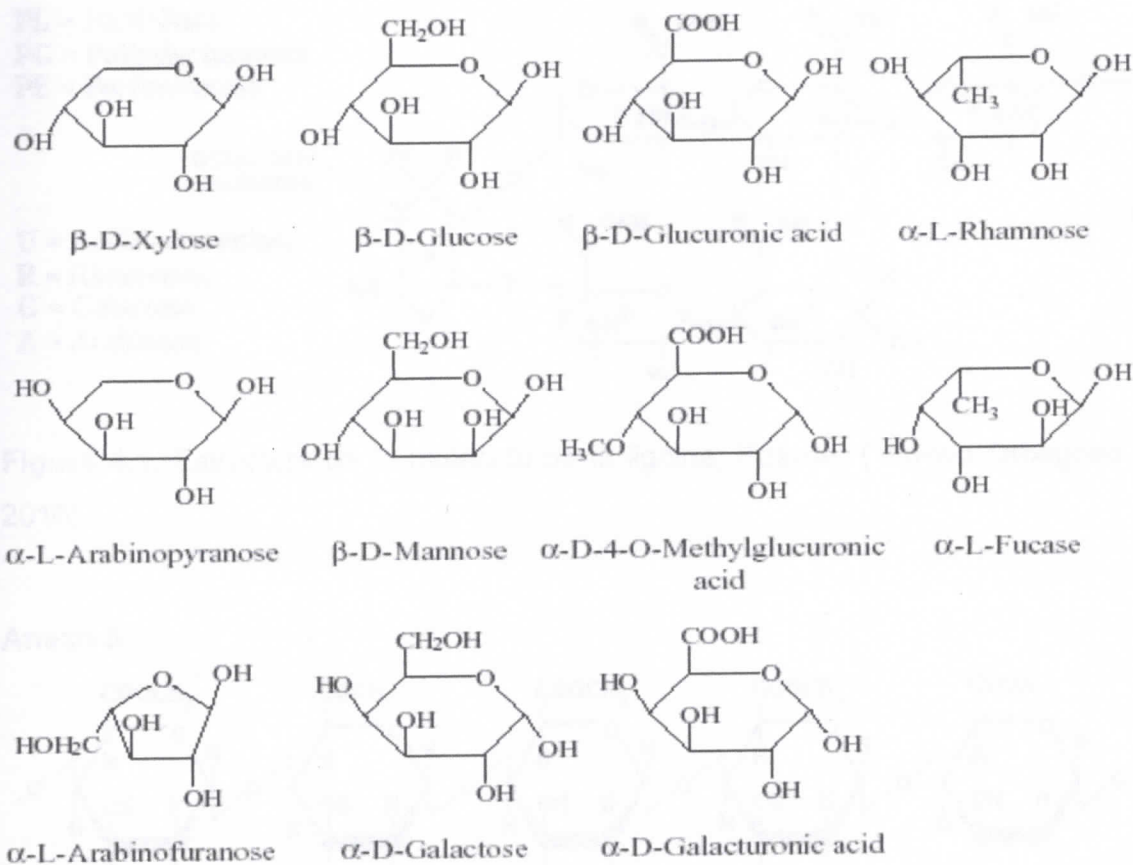


Figura 3.1. Proyección de Haworth de unidades de azúcares presentes en la celulosa; **Fuente:** (Navarro, 2013).



Anexo 4

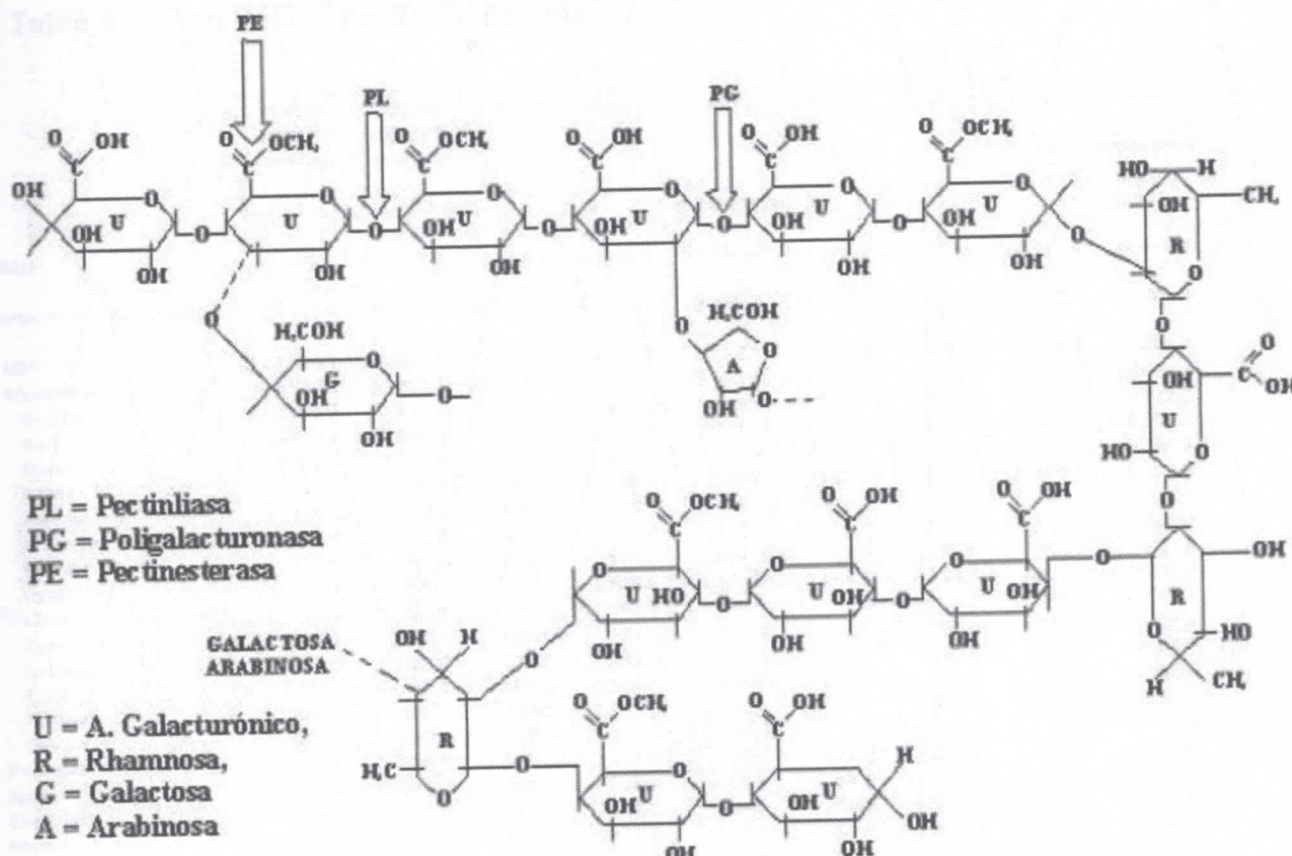


Figura 4.1. Estructura de la molécula de la lignina; Fuente: (Arroyo Orbegoso , 2016)

Anexo 5

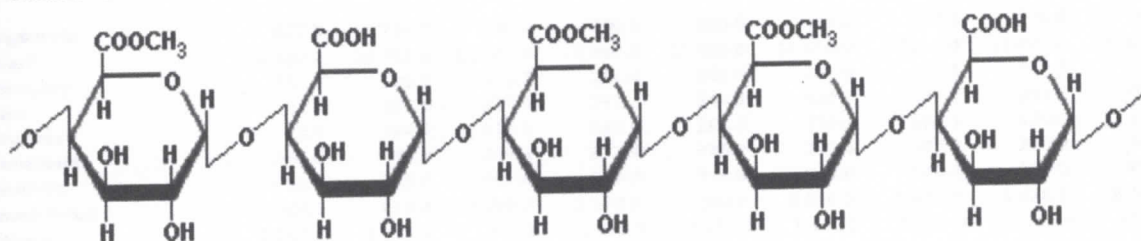


Figura 5.1. Proyección de Haworth de la estructura de pectina; Fuente: (Zamora, 2016)

Tabla 6.1. Producción mundial de naranja

	1980/81 1988/89 average	1990/91 1998/99 average	2004/05	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11 preliminary
	(..... thousand tons) (.....)								
WORLD	39 109.1	54 337.3	61 888.1	65 465.8	66 054.6	68 035.4	66 777.6	64 931.4	70 688.9
Northern Hemisphere 2/	24 659.8	34 403.5	40 909.1	42 666.3	42 798.4	46 047.4	44 772.4	44 697.1	45 578.1
USA	7 630.1	9 881.8	8 265.4	8 181.9	6 917.8	9 139.7	8 280.6	7 479.0	7 937.2
Mediterranean Region	8 959.3	10 485.2	10 991.1	11 537.5	12 419.1	11 847.7	11 816.4	12 257.6	12 696.5
Greece	661.3	918.3	763.2	1 017.0	855.6	970.0	727.1	996.0	922.0
Italy	1 929.4	1 980.0	2 105.1	2 261.4	2 098.2	2 120.0	1 500.3	2 349.8	1 950.0
Spain	1 885.2	2 658.8	2 835.4	2 297.1	3 396.4	2 704.3	3 466.2	2 621.8	3 344.7
Israel	815.7	398.4	184.2	136.0	188.0	162.0	126.9	121.8	92.8
Algeria	198.3	238.6	435.2	474.5	490.9	490.9	415.0	415.0	415.0
Morocco	774.4	901.8	827.0	783.7	720.5	659.4	715.0	827.0	904.0
Tunisia	151.5	145.6	174.7	174.7	180.0	185.5	167.9	188.1	202.4
Egypt	1 159.1	1 548.8	1 759.3	1 978.0	1 939.2	2 054.6	2 138.4	2 401.0	2 430.0
Libya	73.2	57.9	44.0	43.0	45.0	46.6	51.7	48.5	49.2
Cyprus	156.1	142.5	69.5	73.9	72.0	73.5	70.0	70.9	97.8
Lebanon	226.5	206.6	235.6	231.0	228.7	228.7	230.0	230.0	230.7
Syria	79.0	293.1	453.0	554.1	602.9	657.7	689.8	690.0	733.4
Turkey	688.9	832.4	1 040.0	1 445.0	1 535.8	1 427.0	1 450.0	1 230.0	1 260.0
Others	160.7	162.4	64.9	68.1	65.9	67.5	68.2	67.7	64.5
Portugal	100.6	198.5	218.8	228.0	200.5	177.2	201.6	185.8	177.6
Japan	347.6	159.7	88.0	74.0	65.0	63.0	62.0	62.0	62.0
Costa Rica	78.6	195.9	382.7	448.8	424.0	269.0	310.0	370.0	410.0
Mexico	1 601.9	3 109.5	3 977.2	4 112.7	3 979.9	4 297.0	4 193.0	4 051.0	4 100.0
Belize	44.5	121.8	255.8	211.6	220.9	239.5	225.3	225.3	215.9
Cuba	395.2	387.8	389.5	178.4	302.8	200.4	261.0	178.3	149.9
Iran Islamic Rep. of	668.1	1 605.9	2 253.2	2 500.0	2 500.0	2 619.7	1 502.8	1 860.8	1 722.7
China	410.1	1 791.5	4 250.0	4 450.0	4 800.0	5 450.0	6 000.0	6 500.0	5 900.0
India	1 326.6	2 200.6	3 314.0	3 437.4	4 266.9	4 860.3	5 201.4	5 201.0	5 319.0
Pakistan	928.1	1 287.6	1 360.6	1 720.9	1 030.7	1 606.2	1 492.4	1 542.1	1 542.4
Indonesia	480.8	520.6	2 214.0	2 565.5	2 625.9	2 322.6	2 131.8	2 032.7	2 064.3
Thailand	222.2	337.3	363.7	450.7	468.0	414.4	395.9	452.3	465.3
Others	1 466.1	2 119.8	2 585.3	2 569.0	2 576.7	2 540.7	2 698.2	2 299.3	2 815.4
Southern Hemisphere 3/	14 449.3	19 933.8	20 979.0	22 799.6	23 256.2	21 988.0	22 005.1	20 234.4	25 110.7
Argentina	627.6	734.3	770.0	730.0	800.0	940.0	900.0	770.0	580.0
Brazil	10 837.2	15 711.6	16 565.0	17 993.0	18 482.0	16 850.0	17 014.0	15 422.0	20 645.0
Paraguay	333.3	185.9	301.7	296.4	300.0	224.8	226.1	229.9	193.4
Peru	161.3	203.1	334.5	353.8	344.3	380.0	377.7	394.6	404.5
Uruguay	73.4	144.7	176.5	138.3	186.3	128.9	130.1	130.0	120.9
Venezuela	386.6	486.8	374.4	377.9	389.8	382.6	380.0	350.9	343.7
Australia	433.0	528.4	547.0	470.0	419.0	403.0	430.0	380.0	430.0
South Africa	564.6	823.9	1 038.0	1 270.0	1 200.0	1 526.0	1 445.0	1 428.0	1 309.0
Others	1 032.3	1 115.1	871.9	1 170.2	1 134.8	1 152.8	1 102.3	1 129.0	1 084.2

Fuente: (FAO, 2012)



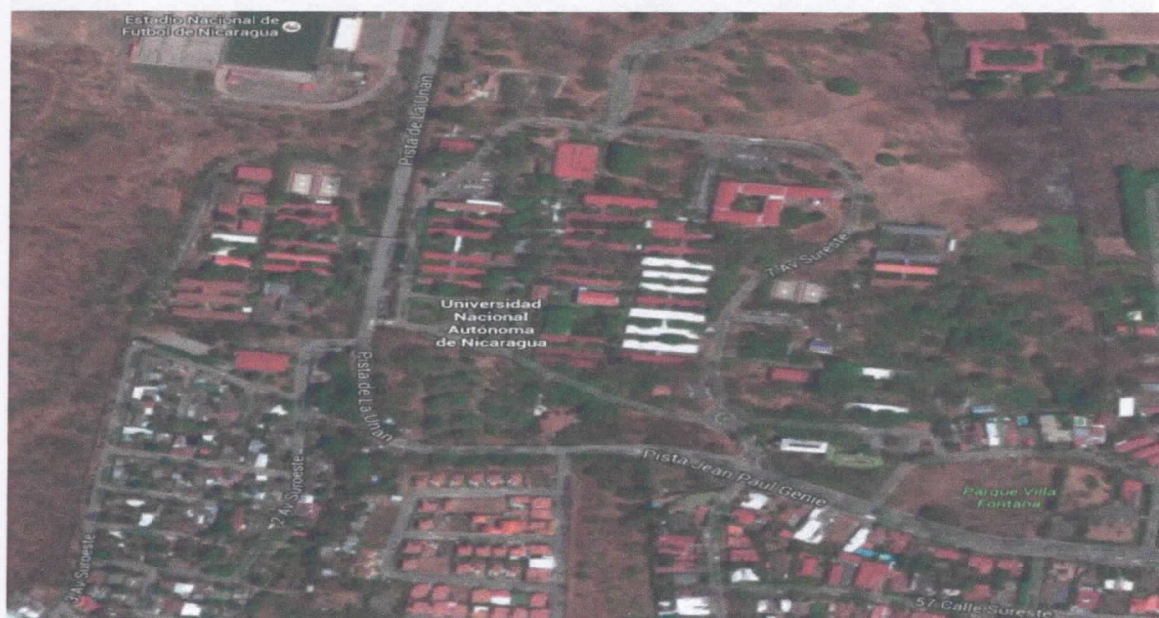
Anexo 7

Imagen 7.1. Ubicación de los laboratorios de química de la UNAN-Managua (●)



Fuente: (Google maps, 2015)

Imagen 7.2. Ubicación satelital de los laboratorios de Química UNAN-Managua (●)



Fuente: (Google maps, 2015)



Anexo 8

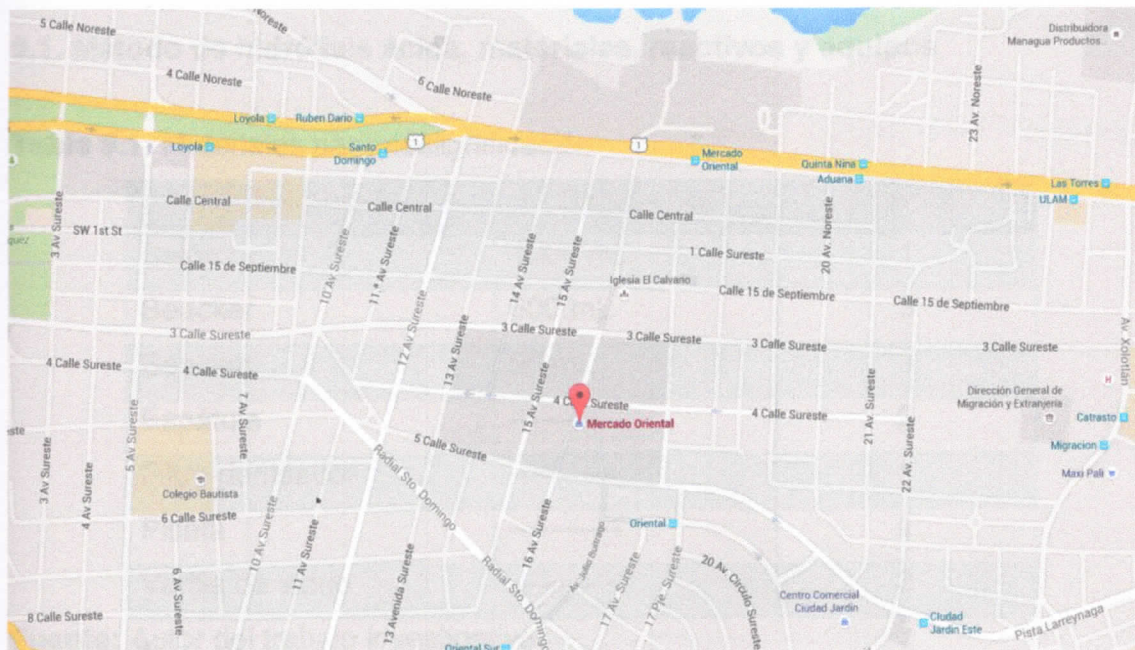


Imagen 8.1. Ubicación del Mercado Oriental Managua; **Fuente:** (Google maps, 2015)

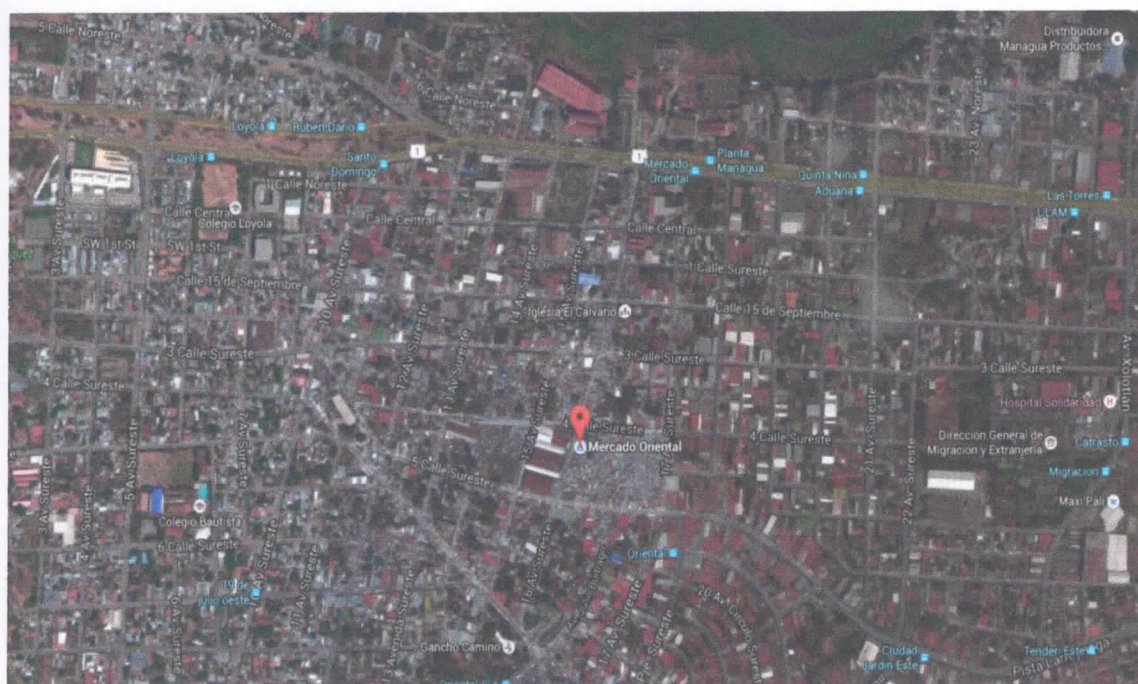


Imagen 8.2. Ubicación satelital del Mercado Oriental Managua, **Fuente:** (Google maps, 2015)



Anexo 9

9.1. Método de hidrólisis ácida, materiales, reactivos y equipos

Tabla 9.1. Materiales para deslignificación

Nombre	Capacidad	Cantidad
Balón	1000 mL	1
Beacker	600 mL	3
Beacker	50 mL	3
Espátula	-----	2
Filtro doméstico	-----	1
Piseta	-----	1
Varilla de vidrio	-----	3

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Tabla 9.2. Reactivos para deslignificación

Nombre	Fórmula
Agua destilada	H ₂ O
Hidróxido de sodio	NaOH
Sulfato de calcio	CaSO ₄

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Tabla 9.3. Equipos para deslignificación

Nombre	Especificaciones
Balanza analítica <i>Ohaus/Adventure</i>	Resolución 0,0001 mg Capacidad máxima: 65g Modelo: AR640 Serie: J0951226040517P
Campana extractora <i>Burdinola</i>	Modelo: OR.ST 1200 Serie: 9127179

Fuente: Autor del trabajo investigativo



Procedimiento Método para la deslignificación

1. Pesar 50 g de muestra previamente secada y triturada, por triplicado (M_1 , M_2 , M_3).
2. Añadir 300 mL de solución de Hidróxido de Sodio (NaOH) al 0,1N (sumergir completamente la muestra).

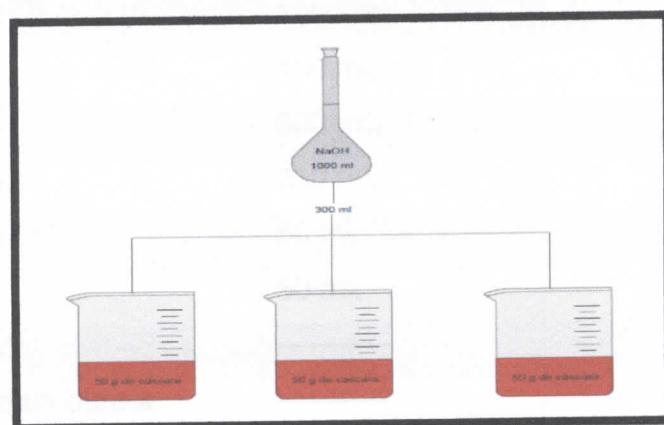


Imagen 9.1. Paso 2; **Fuente:** Autor del trabajo investigativo, elaborado con Chems sketch.

3. Dejar reposar por 15 min.
4. Adicionar 0.816 g de sulfato de calcio (CaSO_4), dejar reposar por 3 horas.

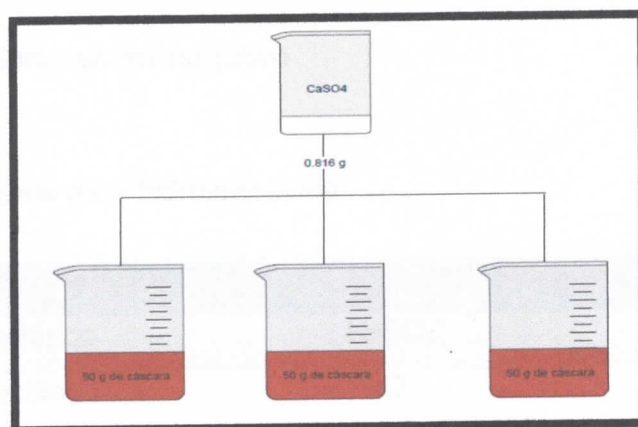


Imagen 9.2. Paso 4; **Fuente:** Autor del trabajo investigativo, elaborado con Chems sketch.



5. Filtrar la muestra (lana de vidrio o filtro doméstico).
6. Descartar el líquido resultante.

Tabla 9.4. Materiales para hidrólisis ácida

Nombre	Capacidad	Cantidad
Balón	1000 mL	1
Balón	100 mL	1
Beaker	600 mL	3
Beaker	250 mL	3
Beaker	50 mL	1
Bureta	50 mL	1
Espátula	-----	1
Pinza para bureta	-----	1
Piseta	-----	1
Probeta	100 mL	6
Soporte metálico	-----	1
Varilla de vidrio	-----	3
Filtro doméstico	-----	1

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Tabla 9.5. Reactivos para hidrólisis ácida

Nombre	Fórmula
Ácido sulfúrico	H ₂ SO ₄
Agua destilada	H ₂ O
Hidróxido de sodio	NaOH

Fuente: Autor del trabajo investigativo



Tabla 9.6. Equipos para hidrólisis ácida

Nombre	Especificaciones		
Balanza analítica <i>Ohaus/Adventure</i>	Resolución 0,0001 mg Capacidad máxima: 65g Modelo: AR640 Serie: J0951226040517P		
Campana extractora <i>Burdinola</i>	Modelo: OR.ST 1200 Serie: 9127179		
Plato caliente <i>BUNSEN</i>	Modelo: - Serie: 29064	Modelo: - Serie: 29065	Modelo: - Serie: 29065

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Procedimiento de hidrólisis ácida

1. Adicionar 300 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) en la siguiente concentración para cada muestra: 5 y 7%.

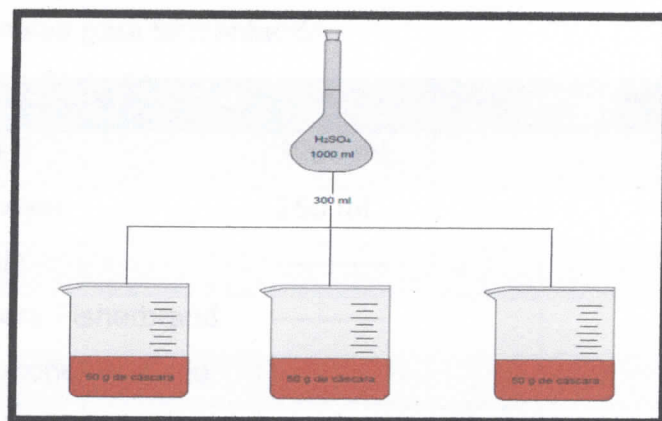


Imagen 9.3. Paso 1; **Fuente:** Autor del trabajo investigativo, elaborado con Chems sketch.



2. Calentar a una temperatura de 100°C en un plato caliente por 15, 24, 48 minutos.

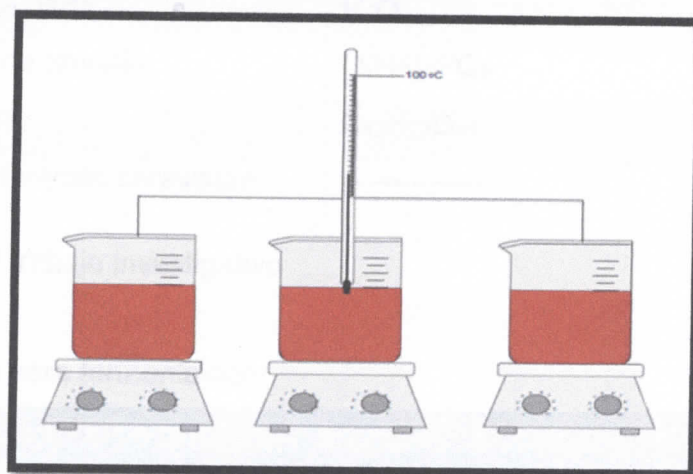


Imagen 9.4. Paso 2; Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Chemscketch.

3. Dejar enfriar.
4. Filtrar.
5. Medir el pH y ajustar a 4,5 – 5,0 con NaOH al 12.5 N

Tabla 9.7. Materiales para fermentación

Nombre	Capacidad	Cantidad
Beaker	1000 mL	1
Erlenmeyer	250 mL	3
Espátula	-----	3
Manguera Fisherbrand	-----	3
Tapón monohoradado	-----	3
Pipeta Pasteur	-----	1
Peras Pasteur	-----	1
Varilla de vidrio	-----	3

Fuente: Autor del trabajo investigativo



Tabla 9.8. Reactivos para fermentación

Nombre	Fórmula
Agua destilada	H ₂ O
Fosfato de amonio	(NH ₄) ₃ PO ₄
Sacarosa	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁
Saccharomyces cerevisiae	-----

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Tabla 9.9. Equipo para fermentación

Nombre	Especificaciones
Balanza analítica <i>Ohaus/Adventure</i>	Resolución 0,0001 mg Capacidad máxima: 65g Modelo: AR640 Serie: J0951226040517P
pHmetro <i>Crison</i>	Modelo: Basic 20+ Serie: 00216

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Procedimiento de Fermentación

1. Preparar 150 mL de solución de fosfato de amonio (NH₄)₃PO₄ al 0,25 % en un frasco color ámbar.
2. Añadir sacarosa
3. Inocular el frasco que contienen la solución anterior con 0.5 g de levadura *Saccharomyces cerevisiae*.
4. Añadir en una proporción de 2:1 jarabe obtenido y la solución que contiene la levadura. Ej. A un volumen de 100 mL de jarabe añadir 50 mL de la solución que contiene la levadura.



5. Realizar la fermentación en un Erlenmeyer de 250 mL a 28°C, en condiciones anaerobias por 3, 6 días. Agitando las muestras cada hora durante las primeras 8 horas por 1 min.

Tabla 9.10. Materiales para destilación simple

Nombre	Capacidad	Cantidad
Balón	250 mL	3
Conector inferior	-----	3
Conector superior	-----	3
Erlenmeyer	250 mL	3
Manguera Fisherbrand	-----	6
Perlas de ebullición	-----	15
Pinzas de tres dedos	-----	9
Condensador	-----	3
Soporte metálico	-----	9
Tapón monohoradado	-----	3
Termómetro	100 °C	3

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Tabla 9.11. Equipos para destilación simple

Nombre	Especificaciones		
Mantas térmicas <i>Briskheat</i>	Capacidad máxima: 120V-50/60 HZ Modelo: HM1000-HS1 Serie: 7-1/2 OD	Capacidad máxima: 120V-50/60 HZ Modelo: HM1000-HS1 Serie: 7-1/2 OD	Capacidad máxima: 120V-50/60 HZ Modelo: HM1000-HS1 Serie: 5-3/8 OD
Termostato <i>Termofisher Scientific</i>	Capacidad máxima: 115V-50/60 HZ Modelo: MC242X1 Serie: 10862230	Capacidad máxima: 115V-50/60 HZ Modelo: MC242X1 Serie: 10872453	Capacidad máxima: 115V-50/60 HZ Modelo: MC242X1 Serie: 10872451

Fuente: Autor del trabajo investigativo



Procedimiento de destilación

1. Hacer el montaje para la destilación simple.
2. Trasvasar el jarabe fermentado a un balón de 250 mL.
3. Agregar perlas de ebullición.
4. Calentar el jarabe a una temperatura de 78.4°C en una manta calefactora.
5. Revisar la temperatura constantemente.
6. Recolectar el destilado en un Erlenmeyer de 250 mL.
7. Trasvasar el bioetanol a un frasco muestral.
8. Mantener bajo refrigeración.

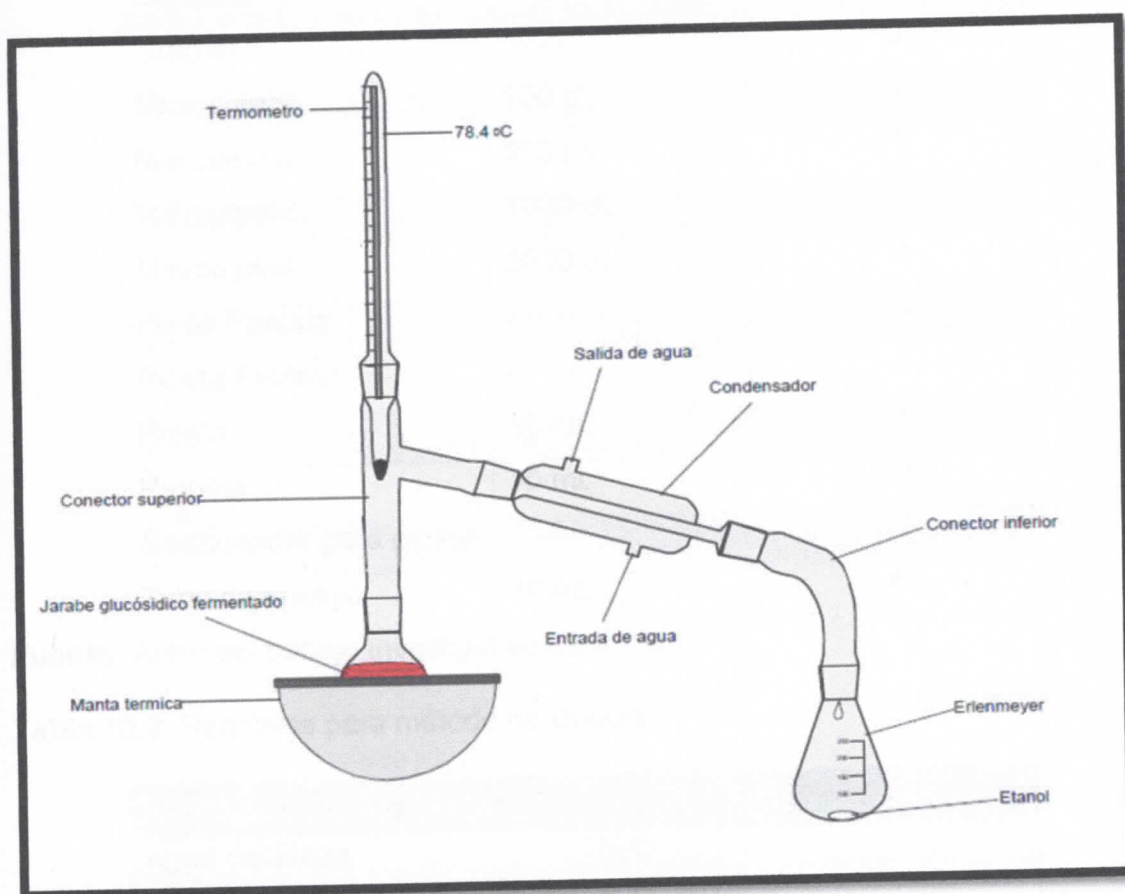


Imagen 9.5. Paso 1; Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Chemscketch.



Anexo 10

10.1. Método fenol- ácido sulfúrico de Dubois, materiales, reactivos y equipos

Tabla 10.1. Materiales para método de Dubois

Nombre	Capacidad	Cantidad
Balón	50 mL	1
Balón	100 mL	1
Beacker	100 mL	4
Beacker	600 mL	2
Espátula	-----	1
Gradilla	-----	2
Micropipeta	100 µL	1
Micropipeta	500 µL	1
Micropipeta	1000 µL	1
Micropipeta	5000 µL	1
Peras Pasteur	-----	3
Pipeta Pasteur	-----	3
Pipeta	10 mL	1
Probeta	10 mL	3
Succionador para pipeta	-----	1
Tubo de ensayo	10 mL	44

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Tabla 10.2. Reactivos para método de Dubois

Nombre	Fórmula
Agua destilada	H ₂ O
Fenol	C ₆ H ₅ -OH
Glucosa	C ₆ H ₁₂ O ₆
Ácido Sulfúrico	H ₂ SO ₄

Fuente: Autor del trabajo investigativo



Tabla 10.3. Equipos para método de Duboi

Nombre	Especificaciones
Balanza analítica <i>Ohaus/Adventure</i>	Resolución 0,0001 mg Capacidad máxima: 65g Modelo: AR640 Serie: J0951226040517P
Campana extractora <i>Burdinola</i>	Modelo: OR.ST 1200 Serie: 9127179
Centrífuga <i>Ortoalresa</i>	Capacidad 5000 rpm Modelo: Digicen 21 Serie: 090686/01
Espectrofotómetro UV- visible <i>Perkin Elmer</i>	Modelo: Lambda EZ 201 Serie: 0242080
Impresora <i>Epson</i>	Modelo: LX-300+

Fuente: Autor del trabajo investigativo

10.2. Procedimiento del método de Dubois

Preparación de soluciones

Fenol al 5%(v/v), pipetear 2.7 mL de fenol (C_6H_5-OH) al 90% y trasvasar a un balón de 50 mL diluir hasta la marca de aforo con agua destilada, mezcle bien. (Preparar la solución bajo una campana de extracción).

Stock de glucosa (0.4 mg/mL), pesar 0,04 g de glucosa ($C_6H_{12}O_6$), trasvasarla a un balón de 100 mL y posteriormente disolver con agua destilada hasta la marca de aforo y homogenizar.



Muestras a analizar:

- Pipetear 5mL de cada muestra de jarabe en tubos de ensayo de 10 mL previamente etiquetados, tapar los tubos.*
- Colocar los tubos en una centrífuga a 2,500 RPM por 15 min.
- Pipetear 100 μL de muestra en un balón de 100 mL, diluir hasta la marca de aforo con agua destilada.

10.3. Preparación de estándares de la curva de calibración de Dubois

Tabla 10.4. Preparación de estándares

Estándar	Con. Estándar (mg/mL)	Vol. Sol. Stock (μL)	Vol. Total (mL)
Blanco (B)	0	2 000 μL de agua destilada	2
Estándar (S ₁)	0.010	50	2
Estándar (S ₂)	0.020	100	2
Estándar (S ₃)	0.030	150	2
Estándar (S ₄)	0.040	200	2
estándar (S ₅)	0.050	250	2
Estándar (S ₆)	0.060	300	2
Estándar (S ₇)	0.070	350	2
Estándar (S ₈)	0.080	400	2

Fuente: Autor del trabajo investigativo

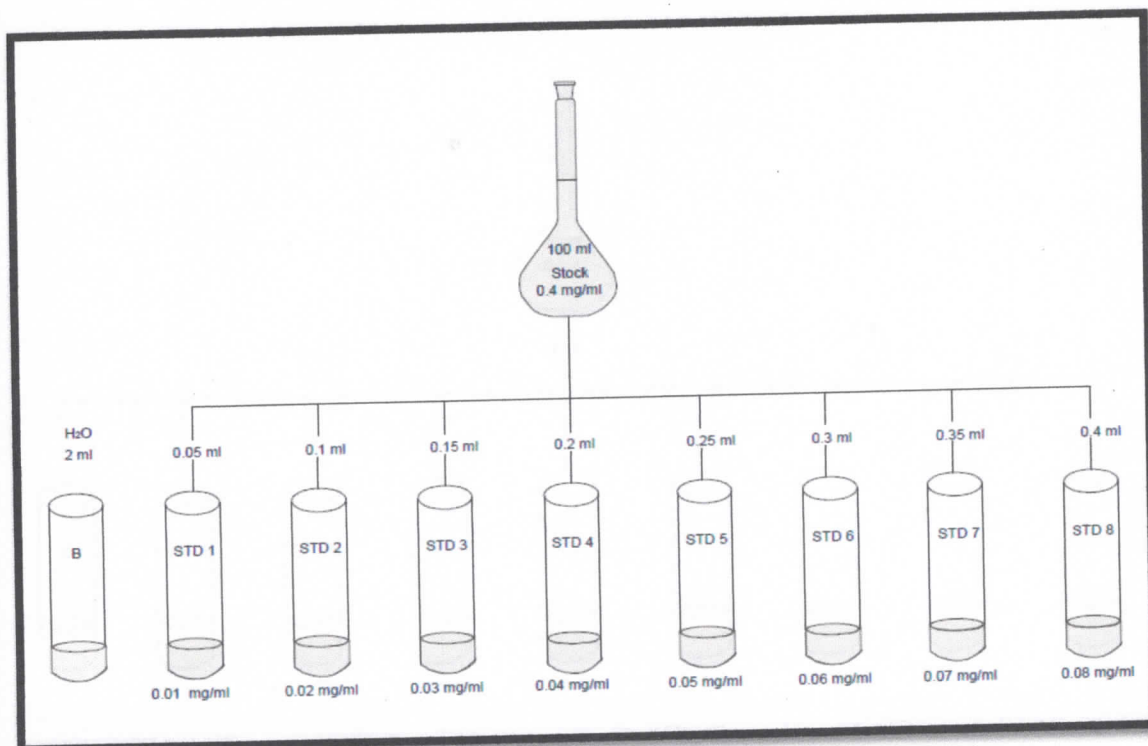


Imagen 10.1. Preparación de entandares de la curva de calibración; **Fuente:** Autor del trabajo investigativo, elaborado con Chems sketch.

Muestras

Pipetear con una micropipeta un volumen de 1000 μ L en tubo de ensayo de 10 mL y diluir con 1000 μ L de agua destilada.

10.4. Procedimiento para la lectura de la curva de calibración

1. Colocar los tubos ensayo previamente etiquetados en una gradilla en orden: B, S₁, S₂, S₃, S₄, S₅, S₆, S₇, S₈ y muestras de jarabe, realizar los análisis por duplicado.
2. Adicionar a cada tubo 1 000 μ L de solución de fenol (C₆H₅-OH) al 5%, incluido el blanco.

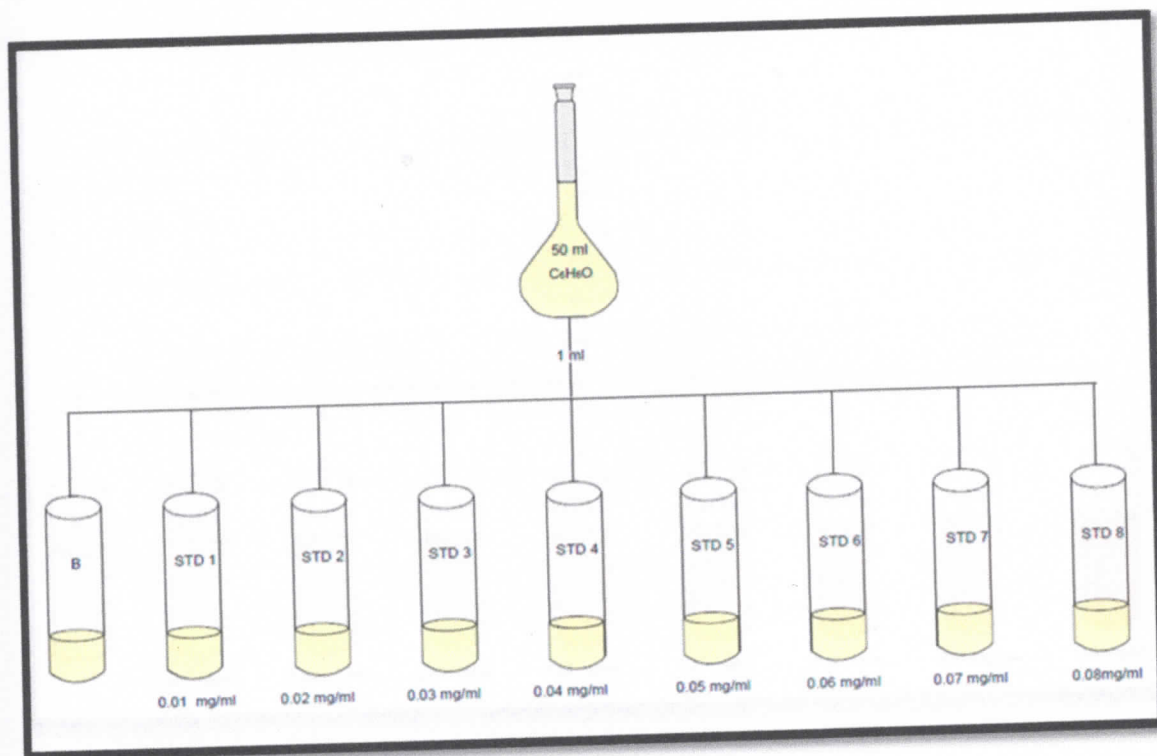


Imagen 10.2. Paso 2; Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Chems sketch.

3. Centrifugar a 2,500 rpm por 30 s.
4. Adicionar 5 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado en un lapso de tiempo de 3 min a cada uno sin deslizar el ácido por las paredes del tubo de ensayo, tapar los tubos.

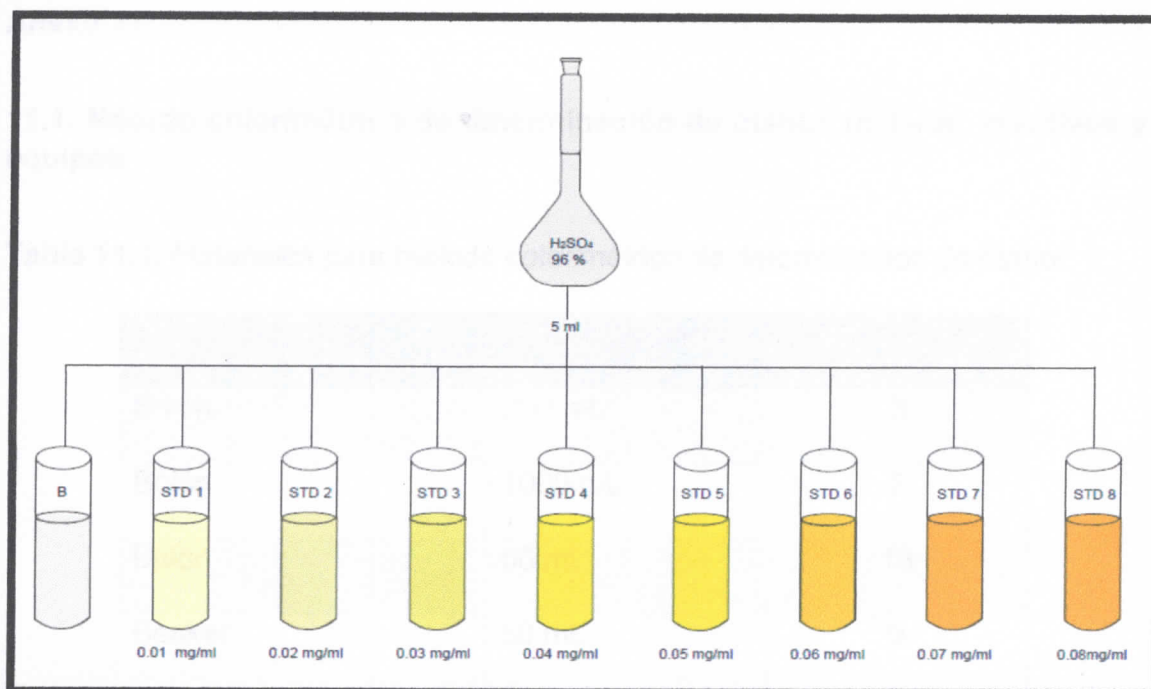


Imagen 10.2. Paso 4, cambio de coloración; **Fuente:** Autor del trabajo investigativo, elaborado con Chemscketch.

5. Sumergir los tubos de ensayos en agua con hielo durante 2 min.
6. Centrifugar a 2,500 rpm por 30 s.
7. Una vez cumplido el tiempo, empezar a leer la Absorbancia a 488 nm, lavar previamente la celda A con agua destilada, posteriormente endulzar con el blanco de reactivo y ubicarla en su lugar, luego se debe tomar la celda B, lavarla 5 veces con agua destilada y endulzar con la solución a leer.



Anexo 11

11.1. Método colorimétrico de determinación de etanol, material, reactivos y equipos

Tabla 11.1. Materiales para método colorimétrico de determinación de etanol

Nombre	Capacidad	Cantidad
Balón	200 mL	3
Balón	1000 mL	2
Balón	50 mL	18
Beaker	50 mL	9
Beaker	100 mL	4
Beaker	600 mL	1
Beaker	1000 mL	1
Bureta	50 mL	3
Espátula	-----	2
Micropipeta	5000 μ L	1
Pipeta	10 mL	2
Succionador	-----	1
Plato Petri	-----	1
Desecador	-----	1

Fuente: Autor del trabajo investigativo



Tabla 11.2. Reactivos para método colorimétrico de determinación de etanol

Nombre	Formula
Agua destilada	H ₂ O
Dicromato de potasio	K ₂ Cr ₂ O ₇
Acetato de sodio	CH ₃ -COONa
Ácido acético	CH ₃ -COOH
Ácido Sulfúrico	H ₂ SO ₄
Etanol	CH ₃ -CH ₂ -OH

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Tabla 11.3. Equipos para método colorimétrico de determinación de etanol

Nombre	Especificaciones
Balanza analítica <i>Ohaus/Adventure</i>	Resolución 0,0001 mg Capacidad máxima: 65g Modelo: AR640 Serie: J0951226040517P
Campana extractora <i>Burdinola</i>	Modelo: OR.ST 1200 Serie: 9127179
Espectrofotómetro UV- visible <i>Perkin Elmer</i>	Modelo: Lambda EZ 201 Serie: 0242080
pHmetro <i>Crison</i>	Modelo: Basic 20+ Serie: 00216
Impresora <i>Epson</i>	Modelo: LX-300+

Fuente: Autor del trabajo investigativo



11.2. Procedimiento del método colorimétrico de estimación de etanol

Preparación de soluciones

Solución madre o Stock de etanol ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$) 15 mg/mL (m/v), pipetear un volumen de etanol de 3.8 mL, en un balón de 200 mL, aforar con agua destilada.

Muestras, pipetear un volumen de muestra de 2 mL, en un balón de 50 mL, aforar con agua destilada.

Muestra control (Extra lite 35 %), pipetear un volumen de muestra de 1.5 mL, en un balón de 50 mL, aforar con agua destilada.

Dicromato de potasio 0.8 N, pesar 8,0 g de Dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) previamente secado en el horno a 120°C durante 3 horas. Disolver en un balón de 200 mL con agua destilada.

Ácido sulfúrico 1N, medido con precisión un volumen de 28 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) disuelto en 1000 mL de agua.

Buffer de acetato pH 4.3, disolver 1,99 g de acetato de sodio ($\text{CH}_3\text{-COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) en un balón de 1000 ml, mezcle con 17,7 mL de ácido acético ($\text{CH}_3\text{-COOH}$) 2 N, aforo con agua destilada mezcle vigorosamente.



Tabla 11.4. Preparación de estándares de la curva de calibración

Estándar	Con. Estándar (mg/mL)	Vol. Sol. Stock (mL)	Vol. Total (mL)
Blanco (B)	0	5 mL de agua destilada	50
Estándar (S ₁)	1.6	5.3	50
Estándar (S ₂)	3.2	10.7	50
Estándar (S ₃)	4.8	16	50
Estándar (S ₄)	6.4	21.3	50
estándar (S ₅)	8.0	26.7	50
Estándar (S ₆)	9.6	32	50
Estándar (S ₇)	11.2	37.3	50
Estándar (S ₈)	12.8	42.7	50

Fuente: Autor del trabajo investigativo

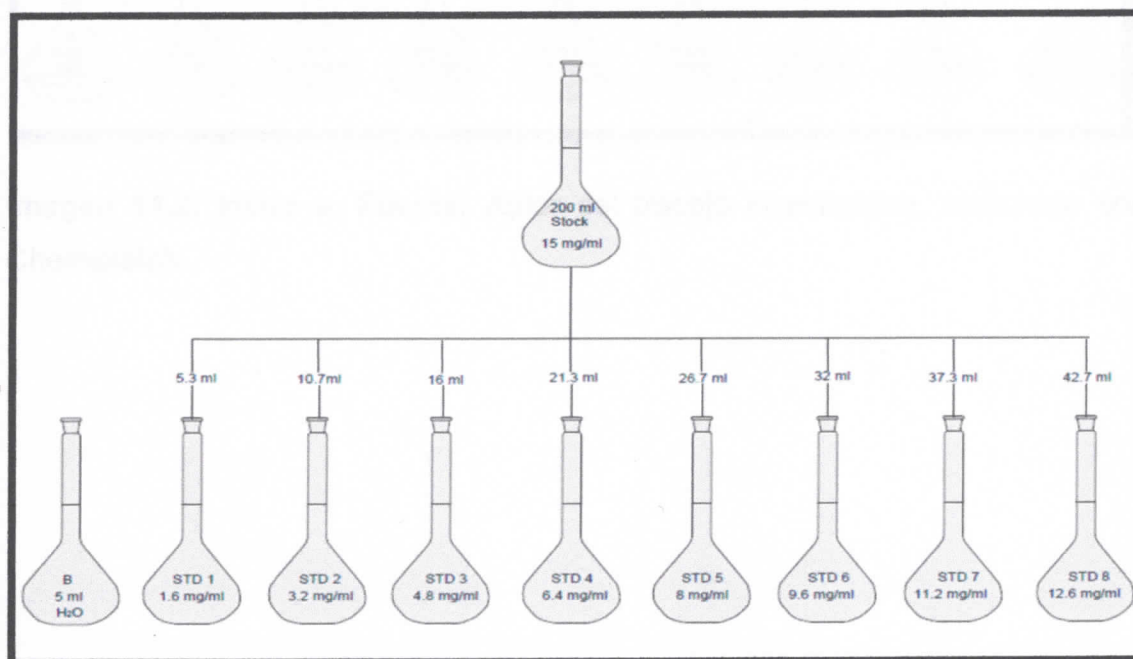


Imagen 11.1. Preparación de estándares; Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Chems sketch



11.3. Procedimiento para la lectura de la curva de calibración

- 1- Colocar los balones previamente etiquetados y agregar las soluciones de los reactivos:

a) Pipetear un volumen de 5 mL de solución estándar

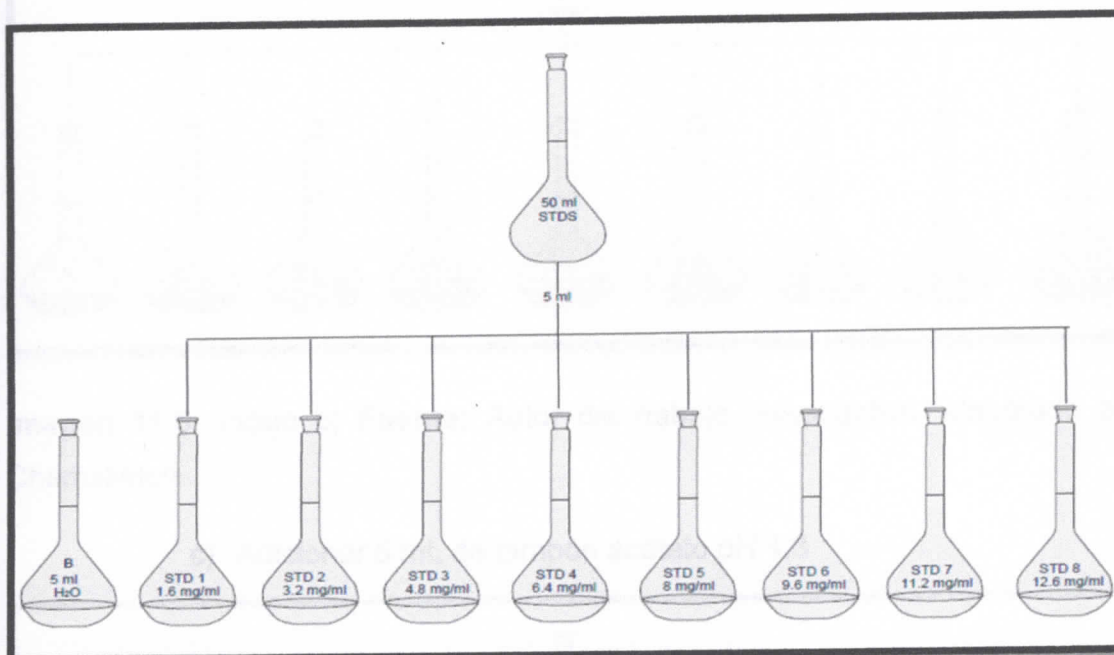


Imagen 11.2. Inciso a; **Fuente:** Autor del trabajo investigativo, elaborado con Chems sketch.



b) Adicionar 5 mL de solución dicromato de potasio

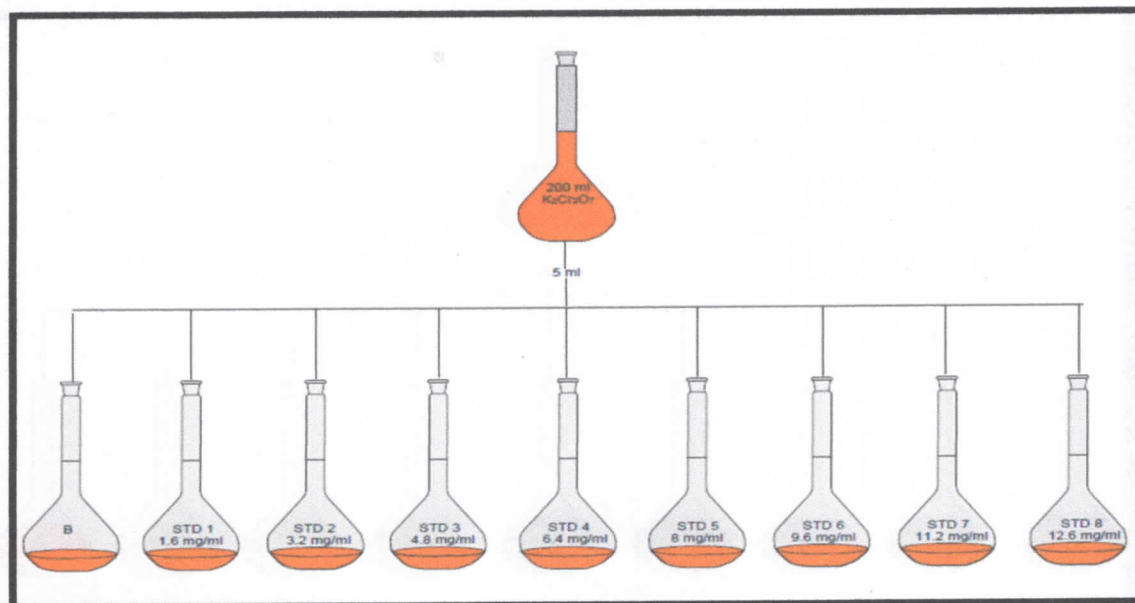


Imagen 11.3. Inciso b; Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Chems sketch.

c) Adicionar 5 mL de tampón acetato pH 4,3

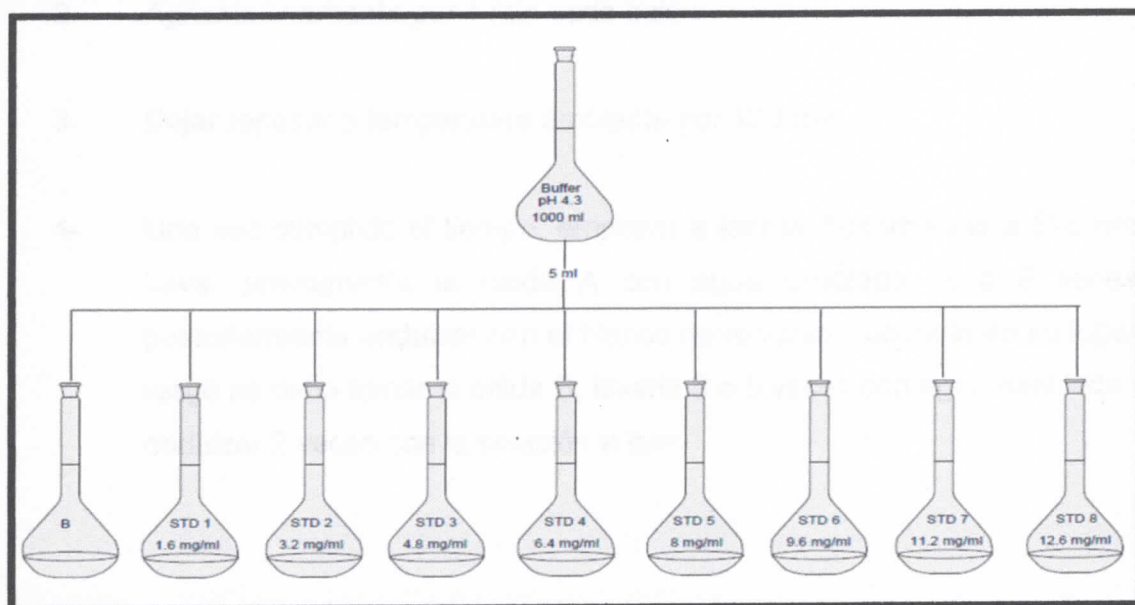


Imagen 11.4. Inciso c; Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Chems sketch.



d) Añadir 25 mL de ácido sulfúrico 1N

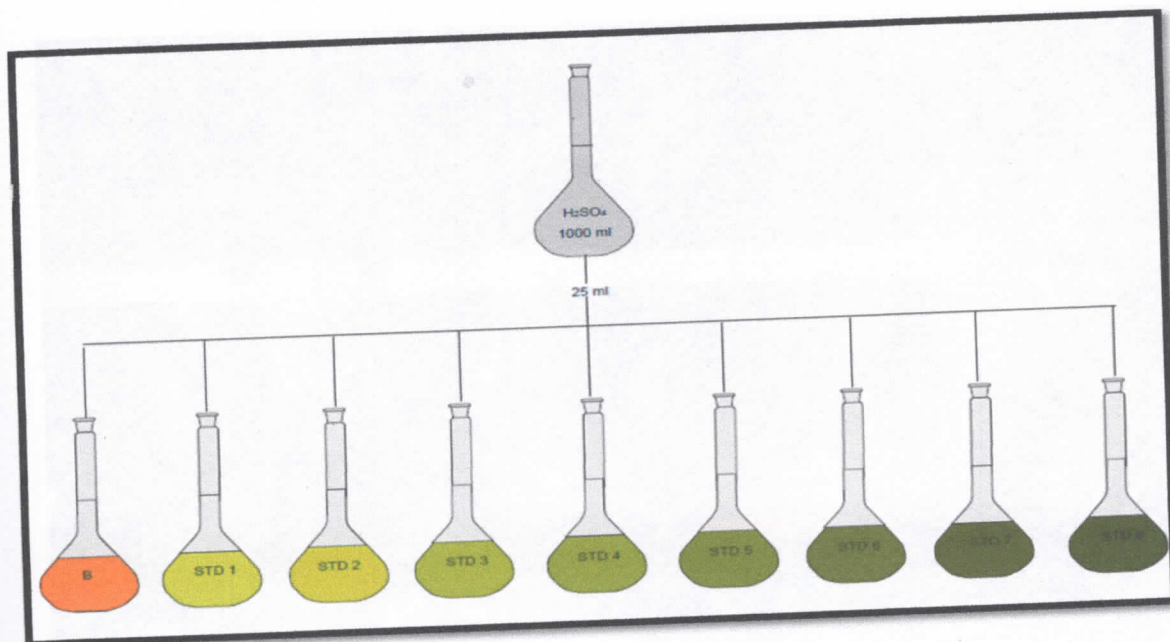


Imagen 11.5. Inciso d y paso 3, cambio de coloración; **Fuente:** Autor del trabajo investigativo, elaborado con Chems sketch.

- 2- Agitar suavemente por 1 min cada balón.
- 3- Dejar reposar a temperatura ambiente por 120 min.
- 4- Una vez cumplido el tiempo, empezar a leer la Absorbancia a 578 nm. Lavar previamente la celda A con agua destilada, 3 o 5 veces, posteriormente endulzar con el blanco de reactivo y ubicarla en su lugar, luego se debe tomar la celda B, lavarla 3 o 5 veces con agua destilada y endulzar 2 veces con la solución a leer.



Anexo 12

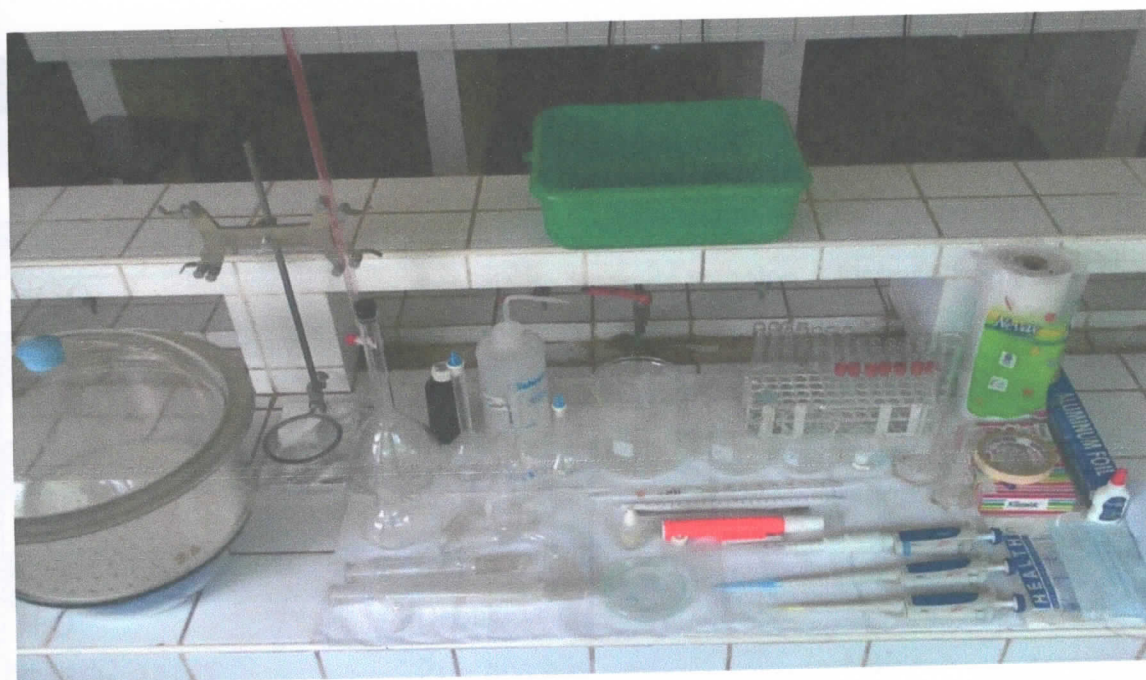


Imagen 12.1. Cristalería y otros materiales utilizados para esta investigación;
Fuente: Autor del trabajo investigativo



Imagen 12.2. Reactivos utilizados en esta investigación; **Fuente:** Autor del trabajo investigativo



Tabla 12.1. Reactivos utilizados en esta investigación

Reactivo	Grado	Marca
HCl	ACS	EMD
NaOH	-	Fisher Chemical
CH ₃ -COOH	Anhidro para análisis	Merck
H ₂ SO ₄	Análisis de traza de metales	Fisher Chemical
Saccharomyces cerevisiae	Comercial	Nevada
C ₆ H ₁₂ O ₆	Anhidro para bioquímica	Merck
K ₂ Cr ₂ O ₇	Estándar primario	J.T. Baker
C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	Fines bioquímicos	Merck
CH ₃ -COONa. 3 H ₂ O	Pro- análisis	Merck
H ₂ O	Destilada	-
CaSO ₄ . 2 H ₂ O	Pro- análisis	Merck
C ₆ -H ₅ -OH	Laboratorio	Anachemia
CH ₃ -CH ₂ -OH	Absoluto para análisis	Merck

Fuente: Autor del trabajo investigativo

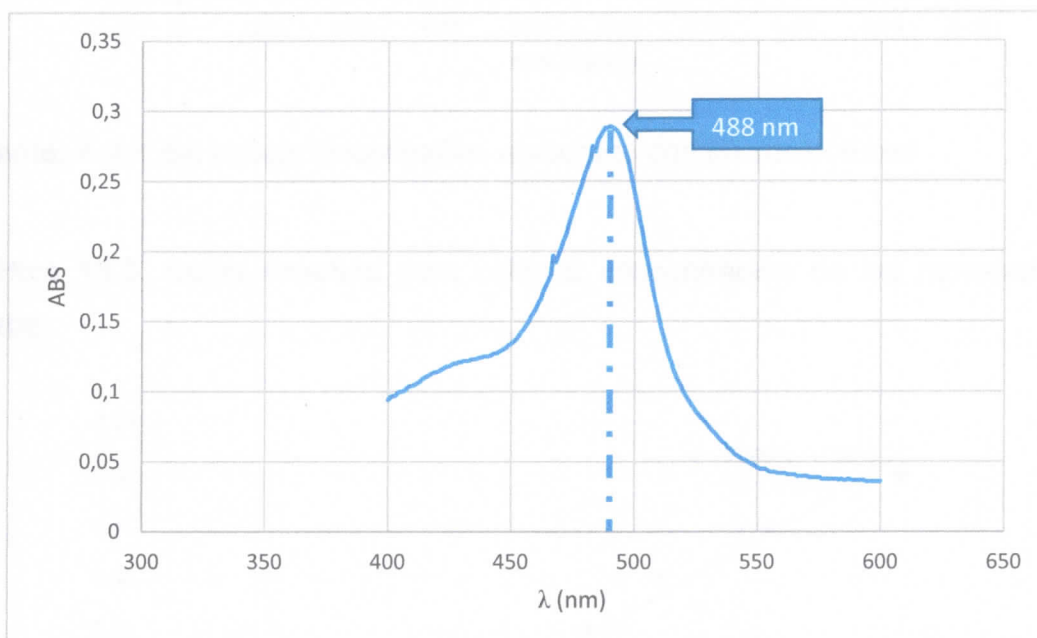


Anexo 13

13.1. Curva de calibración del método de Dubois

Antes de realizar la curva de calibrado fue necesario encontrar la absorbancia o pico de mayor absorbancia para la cuantificación en el espectrofotómetro Perkin Elmer, para lo cual se tomó la solución estándar intermedia 0.04 mg/ml y se le hizo un barrido, el resultado fue 488 nm (Gráfica 12.1).

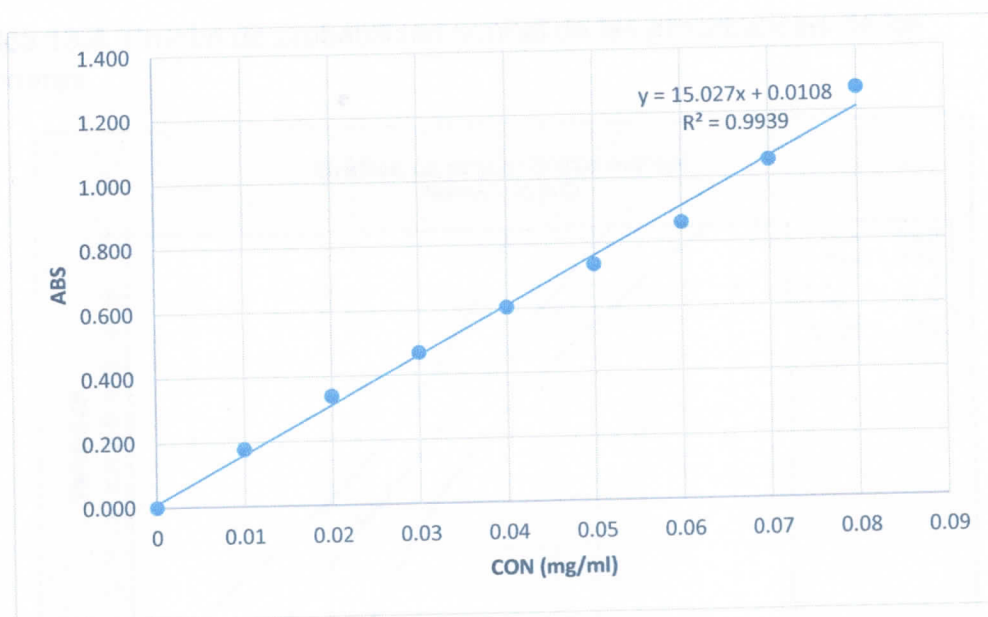
Gráfica 13.1. Pico de mayor absorbancia



Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Microsoft Excel

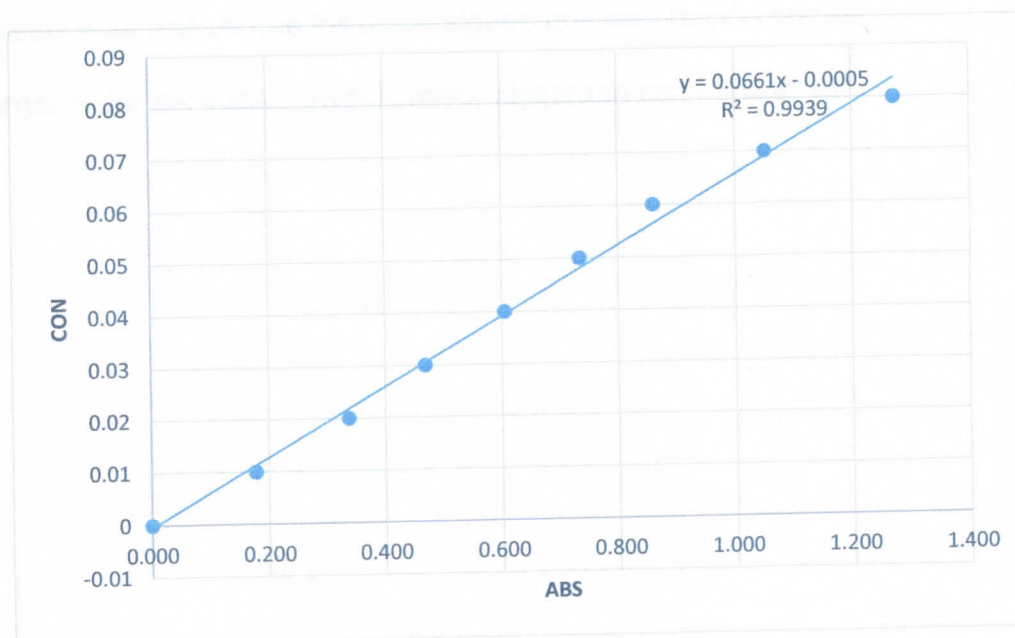


Gráfica 13.2. Curva de calibracion de metodo de Dubois



Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Microsoft Excel

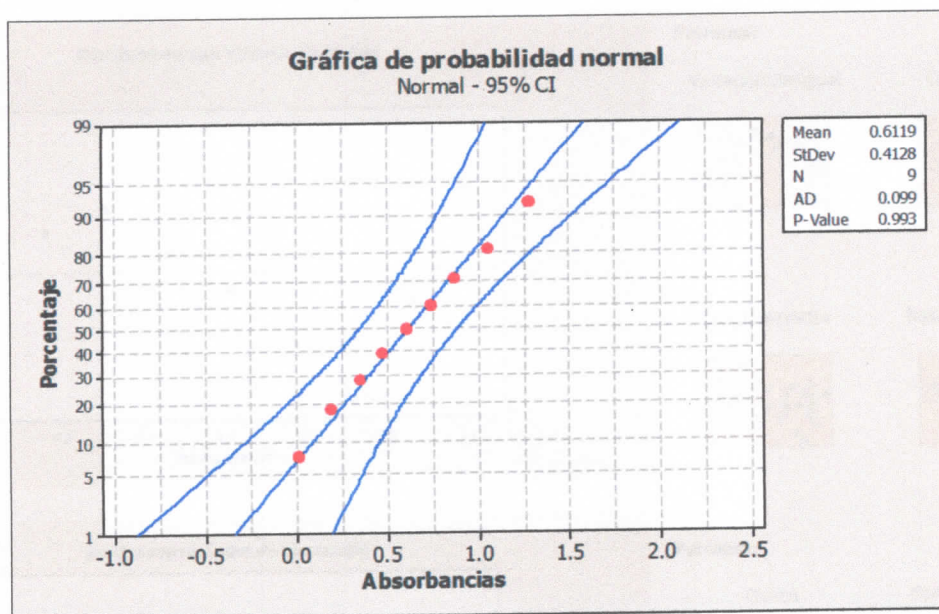
Gráfica 13.3. Curva invertida para calcular concentración de las muestras de jarabe



Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Microsoft excel



Gráfica 13.4. Prueba de probabilidad normal de las absorbancias de los estándares

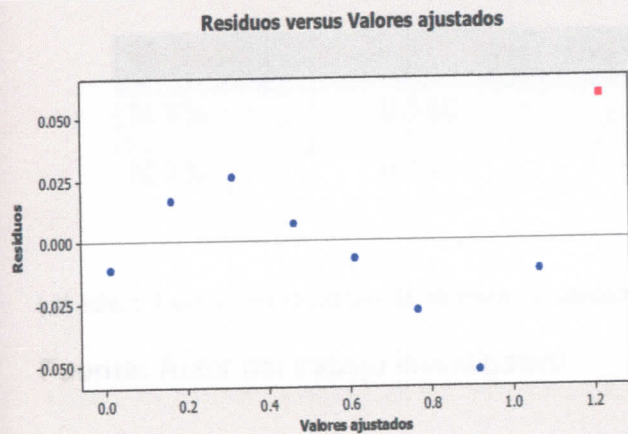


La gráfica muestra que el conjunto de datos se sitúan cerca de la línea normal ajustada y dentro del intervalo de confianza. Estos valores sugieren aceptar la hipótesis nula (H_0) de que los datos siguen una distribución normal.

Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Minitab 16

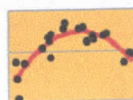


Gráficas 13.5, 13.6. Valores de los residuos de las absorbancias de los estándares de Dubois

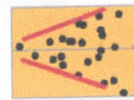


Patrones:

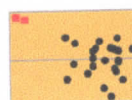
Variación desigual



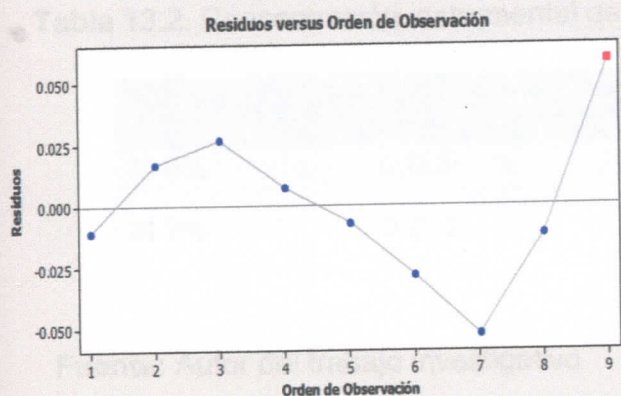
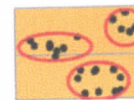
Curva fuerte



Conglomerados

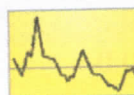


Residuos grandes



Patrones:

Cíclico



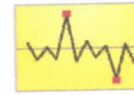
Cambios rápidos



Tendencia



Residuos grandes



Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Minitab 16



13.2. Resultados de la cuantificación de la muestras por medio de la curva de calibración.

Tabla 13.1. Absorbancias de las muestras

Muestra	Lot. 1- t-15 min	Lot. 2- 24 min	Lot. 3- 48 min
M 5%	0.148	0.191	0.242
M 7%	0.172	0.201	0.283

Lot: lote; t: Tiempo de hidrolizado; M: Muestra; %: porcentaje de ácido sulfúrico

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Tabla 13.2. Concentración instrumental de muestras de jarabe

Muestra	Lot. 1- 15 min mg/mL	Lot. 2- 24 min mg/mL	Lot. 3- 48 min mg/mL
M 5%	0.009	0.012	0.015
M 7%	0.011	0.013	0.018

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Tabla 13.3. Concentraciones con factor de dilución de muestras de jarabe

Muestra	Lot. 1- 15 min mg/mL	Lot. 2- 24 min mg/mL	Lot. 3- 48 min mg/mL
M 5%	18.610	24.294	30.992
M 7%	21.782	25.528	36.369

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Los mg/ml son equivalentes a g/L



Tabla 13.4. Absorbancia, concentración instrumental y con factor de dilución de la muestra control

ABS	0.768
Con mg/mL	0.050
Con- Fd mg/mL	50

ABS: Absorbancia

Con: Concentración

Fd: Factor de dilución

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Tabla 13.5. Concentración del hidrolizado.

Muestra	Lot. 1- 15 min mg/mL	Lot. 2- 24 min mg/mL	Lot. 3- 48 min mg/mL
M 5%	4.578	5.976	6.136
M 7%	5.446	6.688	6.910

Fuente: Autor del trabajo investigativo



Tabla 13.5. Datos estadísticos para incertidumbres de la recta de calibración del método de Duboi

STD	CONC	ABS	$(y_i - \bar{y})^2$	x_i^2	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	$y_i - \bar{y}$	$(y_i - \bar{y})^2$	$(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$	\hat{y}	$y_i - \hat{y}$	$(y_i - \hat{y})^2$
1	0	0	0.00012	0	-0.04	0.0016	-0.61189	0.37441	0.02448	0.01082	-0.01032	0.00106
2	0.01	0.175	0.00029	0.0001	-0.03	0.0009	-0.43389	0.18826	0.01302	0.15109	0.01691	0.02852
3	0.02	0.335	0.00071	0.0004	-0.02	0.0004	-0.27389	0.07502	0.00548	0.31136	0.02654	0.07052
4	0.03	0.465	0.00095	0.0009	-0.01	0.0001	-0.14289	0.02042	0.00143	0.45162	0.00733	0.00538
5	0.04	0.605	0.00095	0.0016	0	0	-0.00589	0.00005	0.00000	0.61189	-0.00689	0.00000
6	0.05	0.734	0.00079	0.0025	0.01	0.0001	0.12211	0.01481	0.00122	0.75216	-0.02815	0.00792
7	0.05	0.860	0.00275	0.0036	0.02	0.0004	0.24811	0.06156	0.00496	0.91242	-0.05242	0.00275
8	0.07	1.051	0.00014	0.0049	0	0.0000	0.43911	0.19282	0.01317	1.05269	-0.01169	0.00135
9	0.08	1.272	0.00349	0.0064	0.04	0.0016	0.65011	0.42265	0.02604	1.21296	0.05904	0.34848
Σ Suma	0.35	5.507	0.00838	0.0204	0	0.0060	0	1.563182889	0.09016	5.50700	0.00000	1.35480
Promedios	0.040	0.511888389	0.00093	0.00266667	0	0.00056667	0.00000	0.15146	0.01002	0.61189	0.00000	0.15053
R^2	0.99853633	CON-MIN)=	0.009151135									
P	0.996922080	r=										
b	15.02666667	m=										
a	0.010822222	yc=	0.145									
$S_{y/x}$	0.034596503	Q=	0.202									
S_p	0.44664415	Q=	0.115									
S_a	0.021264515	S ₉₀ =	0.001787528									
S_e	0.027386128	t=	33.64348631									
$S_{e,e}$	0.001788											

Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Microsoft Excel



13.3. Cálculos de la curva de calibración de Dubois

Los datos para la realización de estos cálculos se pueden apreciar en la tabla 13.5

Media Aritmética

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} = \frac{0.36}{9} = 0.0400$$

Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} = \sqrt{\frac{0.0060}{9 - 1}} = 0.0273$$

Ecuación de la recta

$$y = a + bx = 0.0108 + (15.0266)(0.0400) = 0.6118$$

Pendiente de la recta

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} = \frac{0.0902}{0.0060} = 15.0266$$

Ordenada en el origen

$$a = \bar{y} - b\bar{x} = 0.61188 - (15.0266)(0.0400) = 0.0108$$

Coeficiente de correlación

$$r = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]\}^{1/2}} = \frac{0.09016}{0.09044} = 0.9969$$

Correlación relativa

$$t = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} = \frac{(0.9969)(\sqrt{9-2})}{\sqrt{1-(0.9969)^2}} = 33.6434$$



El valor de calculado es mayor que el valor de tabulado (Anexo 15) a un nivel de confianza de 95 % y 7 grados de libertad; se concluye que existe una correlación significativa en la curva de calibración.

Errores aleatorios en y

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{0.00838}{9-2}} = 0.0345$$

Desviación estándar de la Pendiente

$$S_b = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} = \frac{0.03459}{\sqrt{0.0060}} = 0.4465$$

Desviación estándar del Intercepto

$$S_a = S_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2}{n \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} = (0.035) \sqrt{\frac{0.0204}{(9)(0.0060)}} = 0.0212$$

Límite de confianza de la Pendiente

$$\pm LC_{b(95\%)} = t_{(n-2)} s_b$$

$$t_7 = 2.36 \text{ (Anexo 15)}$$

$$LC_b = (2.36) (0.4465) = 1.0541$$

$$LC_b = 1.05 \pm 0.44$$

Límite de confianza de Ordenada en el origen

$$\pm LC_{a(95\%)} = t_{(n-2)} s_a$$

$$t_7 = 2.36$$

$$LC_a = (2.36) (0.0212) = 0.0500$$

$$LC_a = 0.05 \pm 0.02$$



Contraste de Dixon para un valor anómalo

Se realiza el test de Dixon para evaluar, aceptar o rechazar, los valores atípicos de las pruebas realizadas. Esto se hará de acuerdo a: Q calculado $<$ Q tabulado, no se rechazan los valores sospechosos y si Q calculado $>$ Q tabulado, se rechazan los valores sospechosos.

$$Q = \frac{|v_s - v_c|}{(v_g - v_p)} = \frac{|0.860 - 0.734|}{(1.272 - 0.178)} = 0.115$$

El valor crítico ($P = 0.05$) es de 0.493 (Anexo 14). El valor sospechoso 0.860, valor más cercano 0.734, valor más grande 1.272, valor más pequeño 0.178 (Tabla 13.5) no se rechaza.

$$Q = \frac{|v_s - v_c|}{(v_g - v_p)} = \frac{|1.272 - 1.051|}{(1.272 - 0.178)} = 0.202$$

El valor crítico ($P = 0.05$) es de 0.493 (Anexo 14). El valor sospechoso 1.272, valor más cercano 1.051, valor más grande 1.272, valor más pequeño 0.178 (Tabla 13.5) no se rechaza.

Concentración de la muestra

$$X_o = \frac{y_o - a}{b} = \frac{0.148 - 0.0108}{15.0266} = 0.0091 \text{ mg/ml}$$

Desviación estándar de la Concentración de la muestra X_o

$$S_{x_o} = \frac{S_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_o - \bar{y})^2}{b^2 \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} = \left(\frac{0.0345}{15.0266} \right) \left(\sqrt{\frac{1}{3} + \frac{1}{9} + \frac{0.2151}{(15.0266)^2 (0.0060)}} \right) = 0.0018$$

$$(y_o - \bar{y})^2 = 0.2151$$

y_o : Absorbancias de las muestras

\bar{y} : Media de las absorbancias de las muestras



Límite de confianza para un valor X_0

$$LC_{x_0(95)} = x_0 \pm t_{(n-2)}$$

$$t_7 = 2.36$$

$$LC_a = (2.36) (0.0018) = 0.0047$$

$$LC_a = 0.0047 \pm 0.0018$$

Tabla 13.6. Desviaciones estándar, concentraciones y límites de confianza de las muestras

y_0	$(y_0 - \bar{y})^2$	S_{x_0}	Con(x_0)- mg/mL	Con mg/mL-ec. Recta invertida	LC x_0 95 %
M 5%					
0.148	0.2149	0.0018	0.0091	0.0093	0.0091±0.0047
0.191	0.1769	0.0017	0.0119	0.0121	0.0119±0.0040
0.242	0.1368	0.0018	0.0154	0.0155	0.0154±0.0047
M 7%					
0.172	0.1932	0.0018	0.0107	0.0109	0.0107±0.0047
0.201	0.1691	0.0017	0.0127	0.0128	0.0127±0.0040
0.283	0.1084	0.0017	0.0181	0.0182	0.0181±0.0040

y_0 : Absorbancias de las muestras

\bar{y} : Media de las absorbancias de las muestras

S_{x_0} : Desviación estándar de las muestras

x_0 : concentración de la muestra

LC x_0 : Limite de confianza de la muestra

M: Muestra

%: Ácido sulfúrico

Fuente: Autor del trabajo investigativo

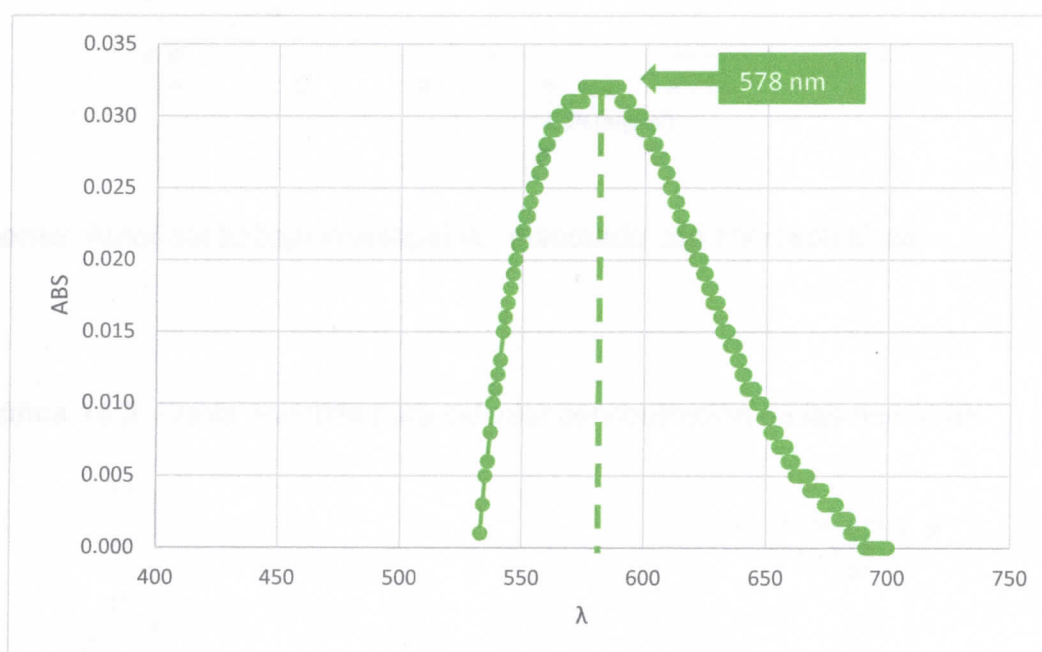


Anexo 14

14.1. Curva de calibración del método de determinación de etanol

Antes de realizar la curva de calibrado fue necesario encontrar la absorbancia o pico de mayor absorbancia para la cuantificación en el espectrofotómetro Perkin Elmer, para lo cual se tomó la solución estándar intermedia 0.04 mg/ml y se le hizo un barrido, el resultado fue 578 nm (Gráfica 13.1).

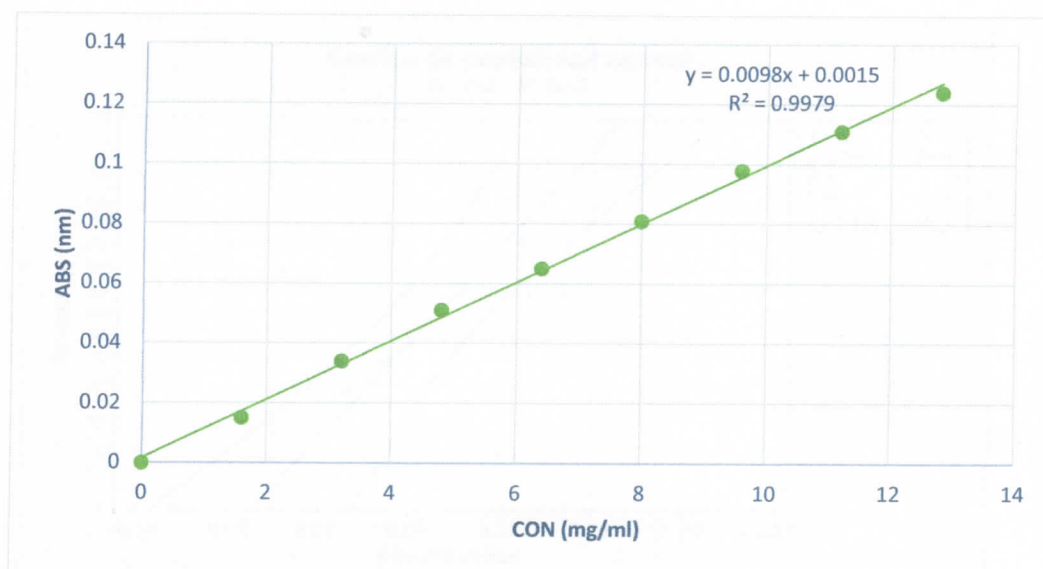
Gráfica 14.1. Pico de mayor absorbancia



Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Microsoft Excel

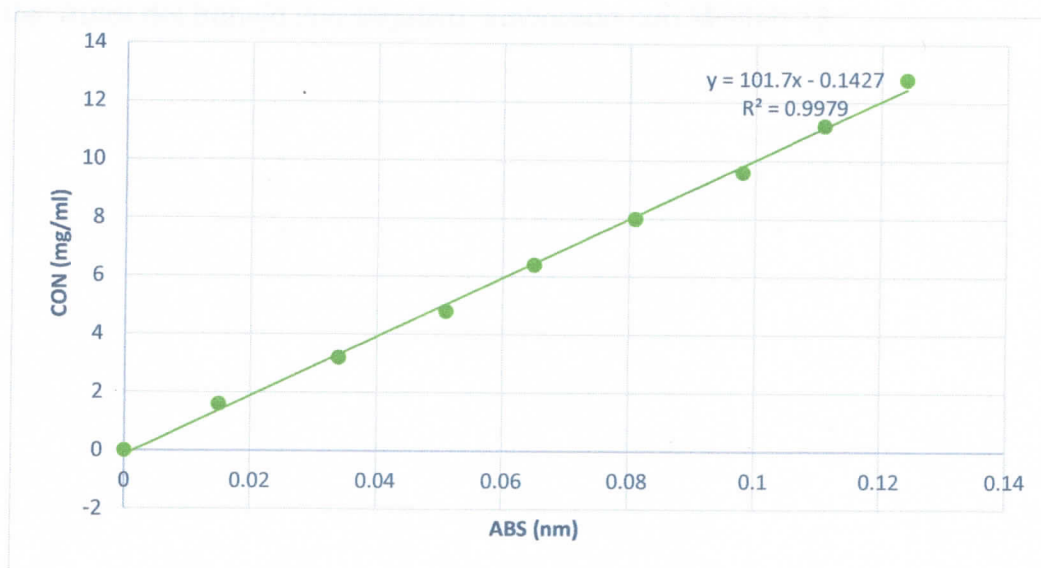


Gráfica 14.2. Curva de calibración de método de determinación de etanol



Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Microsoft Excel

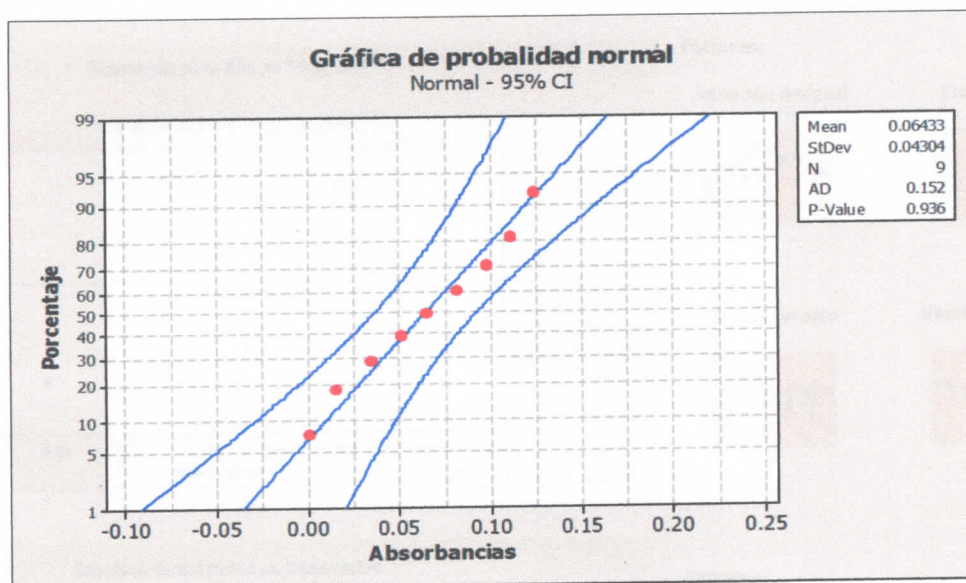
Gráfica 14.3. Curva invertida para calcular concentración de las muestras



Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Microsoft Excel



Gráfica 14.4. Prueba de probabilidad normal de las absorbancias de los estándares

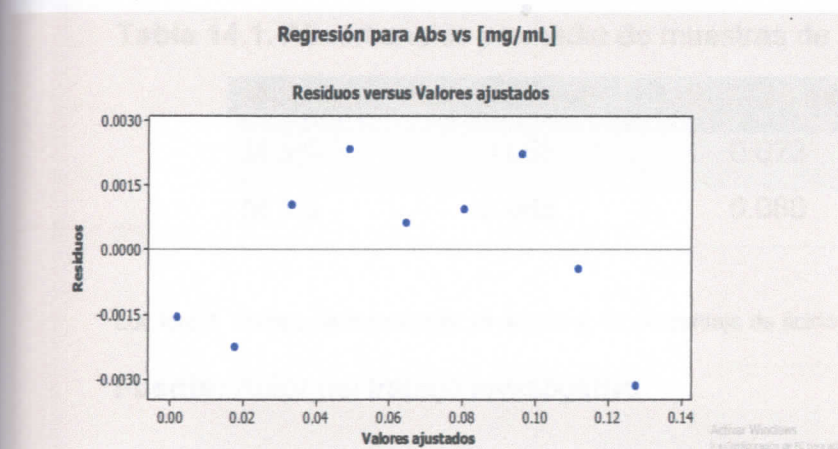


La gráfica muestra que el conjunto de datos se sitúan cerca de la línea normal ajustada y dentro del intervalo de confianza. Estos valores sugieren aceptar la hipótesis nula (H_0) de que los datos siguen una distribución normal.

Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Minitab 16

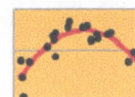


Gráficas 14.5, 14.6. Valores de los residuos de las absorbancias de los estándares de etanol

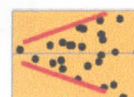


Patrones:

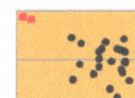
Variación desigual



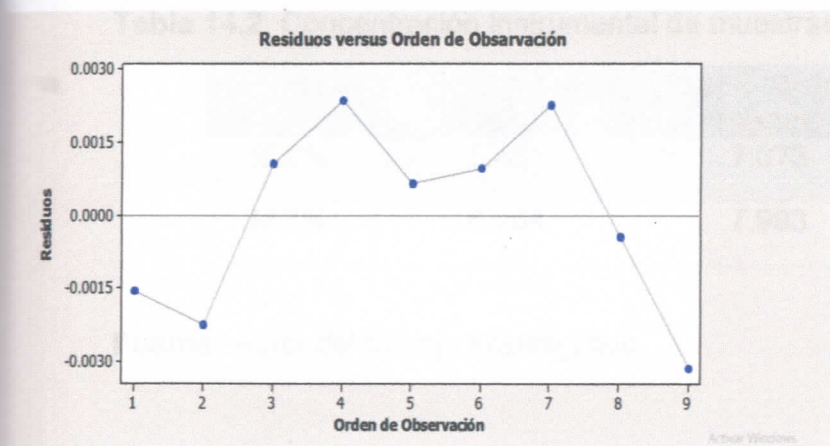
Curva fuerte



Conglomerados



Residuos grandes



Patrones:

Cambios rápidos



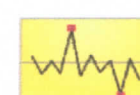
Cíclico



Tendencia



Residuos grandes



Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Minitab 16



14.2. Resultados de la cuantificación de la muestras por medio de la curva de calibración.

Tabla 14.1. Absorbancias promedio de muestras de etanol

Muestra	Lot. 1- 15 min	Lot. 2- 24 min	Lot. 3- 48 min
M 5%	0.055	0.073	0.087
M 7%	0.063	0.080	0.069

Lot: lote; t: Tiempo de hidrolizado; M: Muestra; %: porcentaje de ácido sulfúrico

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Tabla 14.2. Concentración instrumental de muestras de etanol

Muestra	Lot. 1- 15 min mg/mL	Lot. 2- 24 min mg/mL	Lot. 3- 48 min mg/mL
M 5%	5.451	7.073	8.739
M 7%	6.264	7.993	6.841

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Tabla 14.3. Concentraciones con factor de dilución de muestras de etanol

Muestra	Lot. 1- 15 min mg/mL	Lot. 2- 24 min mg/mL	Lot. 3- 48 min mg/mL
M 5%	136.275	176.825	218.478
M 7%	156.600	199.825	171.018

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Los mg/ml son equivalentes a g/l



Tabla 14.4. Absorbancia, concentración instrumental y con factor de dilución de la muestra control

ABS	0.077
Con mg/mL	7.688
Con- Fd mg/mL	192.200

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Tabla 14.5. Concentraciones de etanol obtenido

Muestra	Lot. 1- 15 min mg/mL	Lot. 2- 24 min mg/mL	Lot. 3- 48 min mg/mL
M 5%	9.539	12.378	15.293
M 7%	10.962	13.988	11.971

Fuente: Autor del trabajo investigativo

Los mg/ml son equivalentes a g/l

Tabla 14.5. Datos estadísticos para incertidumbres de la recta de calibración del método de determinación de etanol

STD	CONC	ABS	$(y_i - \bar{y})^2$	x_i^2	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	$y_i - \bar{y}$	$(y_i - \bar{y})^2$	$(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$	\hat{y}	$y_i - \hat{y}$	$(y_i - \hat{y})^2$
1	0	0	0.00000	0	-5.4	40.55	-0.06433	0.00414	0.41173	0.00153	-0.00153	0.00394
2	1.6	0.015	0.00000	2.55	-4.3	23.04	-0.04933	0.00243	0.23680	0.01723	-0.02223	0.00222
3	3.2	0.034	0.00000	10.24	-3.2	10.24	-0.03033	0.00092	0.09707	0.03253	0.00107	0.00099
4	4.8	0.051	0.00001	23.04	-1.5	2.55	-0.01333	0.00018	0.02133	0.04853	0.00237	0.00025
5	6.4	0.065	0.00000	40.95	0	0	0.00067	0.00000	0.00000	0.06433	0.00167	0.00000
6	8	0.081	0.00000	64	1.6	2.55	0.01667	0.00028	0.02667	0.08003	0.00097	0.00025
7	9.6	0.098	0.00001	92.15	3.2	10.24	0.03367	0.00113	0.10773	0.09573	0.00227	0.00099
8	11.2	0.111	0.00000	125.44	5	23.04	0.04667	0.00218	0.22400	0.11143	-0.00143	0.00222
9	12.8	0.124	0.00001	165.84	6.4	40.95	0.05967	0.00356	0.38187	0.12713	-0.00313	0.00394
\sum Suma	57.6	0.575	0.000031	522.24	0	153.6	6.92339E-17	0.07482	1.5072	0.57500	0.00000	0.00479
Prómedios	5.400	0.0643	0.00000	58.02666667	0	17.06666667	0.00000	0.00155	0.15747	0.06433	0.00000	0.00164
R^2	0.979552	S_{y0}	0.1429380									
R	0.989671	X_0	5.443323									
b	0.0098125	n	9									
a	0.0015333	m	3									
$S_{y/x}$	0.0020908	y^2	0.055									
S_y	0.001687	t	58.155248									
S_a	0.0012851	S_y	0.0430407									
S_e	4.3317805	Q	0.1152561									

Fuente: Autor del trabajo investigativo, elaborado con Microsoft Excel



14.3. Cálculos de la curva de calibración de determinación de etanol

Los datos para la realización de estos cálculos se pueden apreciar en la tabla 14.1

Media Aritmética

Media Aritmética

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} = \frac{57.6}{9} = 6.4000$$

Desviación estándar

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} = \sqrt{\frac{153.6}{9 - 1}} = 4.3818$$

Desviación estándar en y

$$S_y = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n - 1}} = \sqrt{\frac{0.01482}{9 - 1}} = 0.0430$$

Ecuación de la recta

$$y = a + bx = 0.0015 + (0.0098)(6.4000) = 0.0642$$

Pendiente de la recta

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} = \frac{1.5072}{153.6} = 0.0098$$

Ordenada en el origen

$$a = \bar{y} - b\bar{x} = 0.0643 - (0.0098)(6.4) = 0.002$$



Coeficiente de correlación

$$r = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]\}^{1/2}} = \frac{1.5072}{1.5087} = 0.9990$$

Correlación relativa

$$t = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} = \frac{(0.9990)(\sqrt{9-2})}{\sqrt{1-(0.9990)^2}} = 59.1164$$

El valor de calculado es mayor que el valor de tabulado (Anexo 15) a un nivel de confianza de 95 % y 7 grados de libertad; se concluye que existe una correlación significativa en la curva de calibración.

Errores aleatorios en y

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n-2}} = \sqrt{\frac{0.00003}{9-2}} = 0.0020$$

Desviación estándar de la Pendiente

$$S_b = \frac{S_{y/x}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} = \frac{0.0020}{\sqrt{153.6}} = 0.0002$$

Desviación estándar del Intercepto

$$S_a = S_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2}{n \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} = (0.0020) \sqrt{\frac{522.24}{(9)(153.6)}} = 0.0012$$



Límite de confianza de la Pendiente

$$\pm LC_{b(95\%)} = t_{(n-2)s_b}$$

$$t_7 = 2.36 \text{ (Anexo 15)}$$

$$LC_b = (2.36) (0.0002) = 0.0005$$

$$LC_b = 0.0002 \pm 0.0005$$

Límite de confianza de Ordenada en el origen

$$\pm LC_{a(95\%)} = t_{(n-2)s_a}$$

$$t_7 = 2.36$$

$$LC_a = (2.36) (0.0012) = 0.0028$$

$$LC_a = 0.0012 \pm 0.0028$$

Contraste de Dixon para un valor anómalo

Se realiza el test de Dixon para evaluar, aceptar o rechazar, los valores atípicos de las pruebas realizadas. Esto se hará de acuerdo a: Q calculado $<$ Q tabulado, no se rechazan los valores sospechosos y si Q calculado $>$ Q tabulado, se rechazan los valores sospechosos.

$$Q = \frac{|v_s - v_c|}{(v_g - v_p)} = \frac{|0.124 - 0.111|}{(0.124 - 0.015)} = 0.119$$

El valor crítico ($P = 0.05$) es de 0.493 (Anexo 15). El valor sospechoso 0.124, valor más cercano 0.111, valor más grande 0.124, valor más pequeño 0.015 (Tabla 14.5) no se rechaza.

Concentración de la muestra

$$X_o = \frac{y_o - a}{b} = \frac{0.055 - 0.0015}{0.0098} = 5.4591 \text{ mg/ml}$$



Desviación estándar de la Concentración de la muestra X_0

$$S_{x_0} = \frac{S_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}} = \left(\frac{0.0020}{0.0098} \right) \left(\sqrt{\frac{1}{3} + \frac{1}{9} + \frac{0.00008}{(0.0098)^2 (153.6)}} \right) = 0.1369$$

$$(y_0 - \bar{y})^2 = 0.00008$$

Donde:

y_0 : Absorbancias de las muestras

\bar{y} : Media de las absorbancias de las muestras

Límite de confianza para un valor X_0

$$LC_{x_0(95)} = x_0 \pm t_{(n-2)}$$

$$t_7 = 2.36$$

$$LC_a = (2.36) (0.1369) = 0.3230$$

$$LC_a = 5.4591 \pm 0.3230$$

Tabla 14.6. Desviaciones estándar, concentraciones y límites de confianza de las muestras

y_0	$(y_0 - \bar{y})^2$	$S_{x_0} =$	Con(x_0)- mg/mL	Con mg/mL-ec. Recta invertida	LC_{x_0} 95 %
M 5 %					
0.055	0.00008	0.1369	5.4591	5.4508	5.4591±0.3230
0.073	0.00007	0.1427	7.2959	7.2814	7.2959±0.3367
0.087	0.00052	0.1477	8.7244	8.7052	8.7244±0.3486
M 7 %					
0.063	0.000002	0.1421	6.2755	6.2644	6.2755±0.3353
0.080	0.00024	0.1446	8.0102	7.9933	8.0102±0.3413
0.069	0.00002	0.1423	6.8878	6.8746	6.8878±0.3358

y_0 : Absorbancias de las muestras

\bar{y} : Media de las absorbancias de las muestras

S_{x_0} : Desviación estándar de las muestras

x_0 : concentración de la muestra

LC_{x_0} : Limite de confianza de la muestra

Fuente: Autor del trabajo investigativo



Anexo 15

Imagen 15.1. Distribución t de Student

Valor de t para un intervalo de confianza de Valor crítico de $ t $ para valores de P de número de grados de libertad	90%	95%	98%	99%
	0.10	0.05	0.02	0.01
1	6.31	12.71	31.82	63.66
2	2.92	4.30	6.96	9.92
3	2.35	3.18	4.54	5.84
4	2.13	2.78	3.75	4.60
5	2.02	2.57	3.36	4.03
6	1.94	2.45	3.14	3.71
7	1.89	2.36	3.00	3.50
8	1.86	2.31	2.90	3.36
9	1.83	2.26	2.82	3.25
10	1.81	2.23	2.76	3.17
12	1.78	2.18	2.68	3.05
14	1.76	2.14	2.62	2.98
16	1.75	2.12	2.58	2.92
18	1.73	2.10	2.55	2.88
20	1.72	2.09	2.53	2.85
30	1.70	2.04	2.46	2.75
50	1.68	2.01	2.40	2.68
∞	1.64	1.96	2.33	2.58

Fuente: (Miller & Miller, 2010)



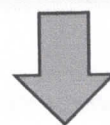
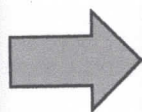
Anexo 16

Flujograma 16.1. Producción de bioetanol a partir de cascara de citrus sinensis (Naranja) a escala de laboratorio

selección de la materia prima

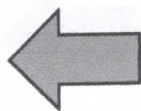


inspección de la materiaprima



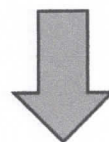
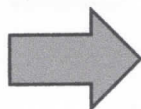
Secado

Lavado

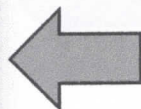




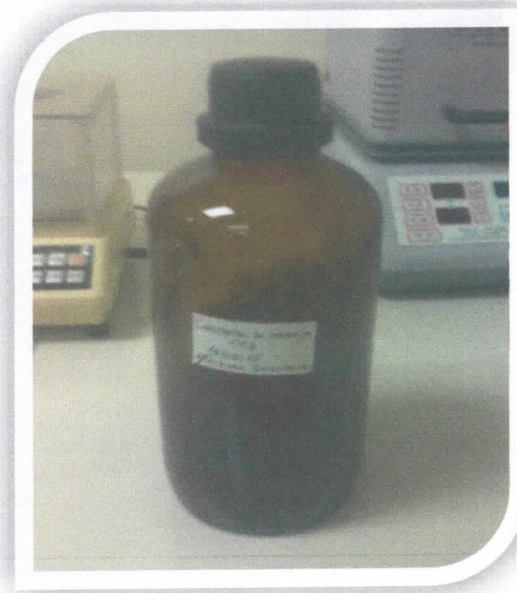
Triturado



Pesado

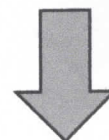
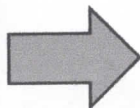


Almacenamiento



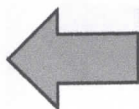
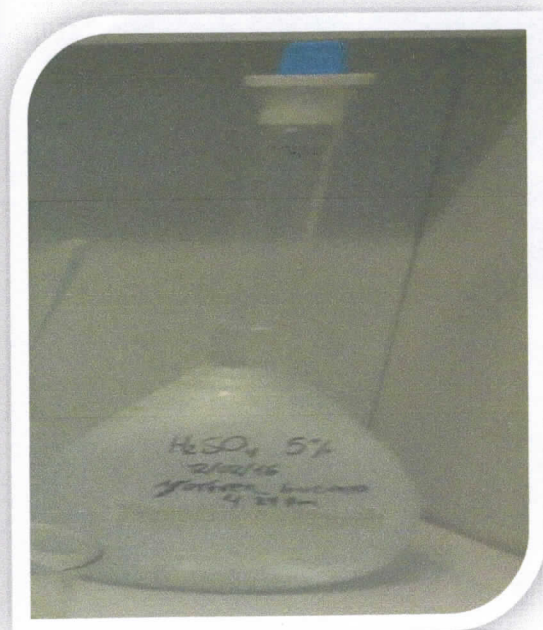


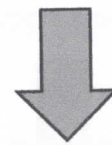
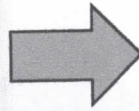
Deslignificación



Hidrólisis ácida

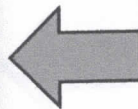
Filtración





Almacenamiento del jarabe

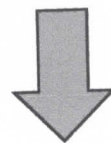
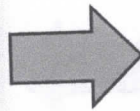
Filtración





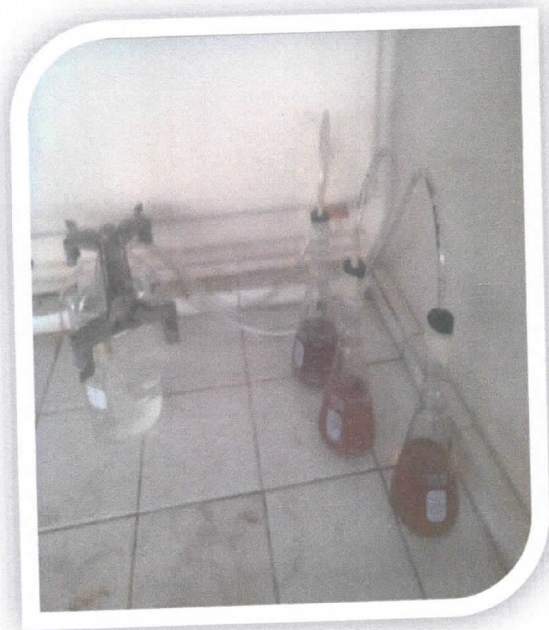
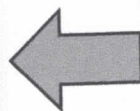
Neutralización

Medición de pH



Desgasificación

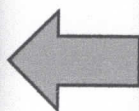
Fermentación





Almacenamiento

Destilación



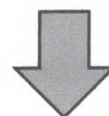
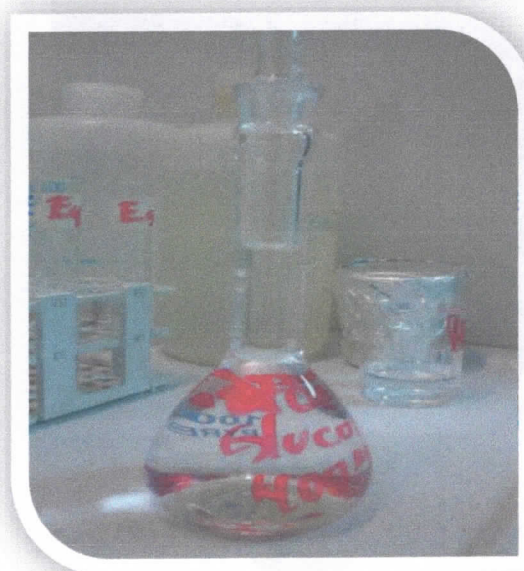
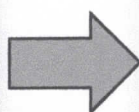
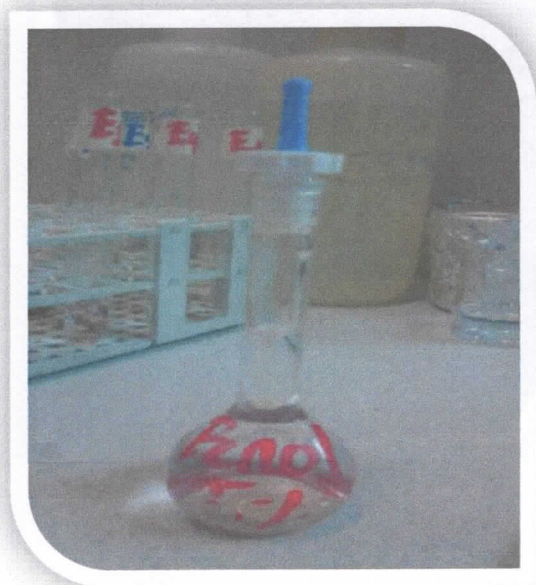


Anexo 17

Flujograma 17.1. Procedimiento de método de Dubois

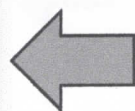
Solución de fenol

Solución stock de glucosa



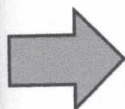
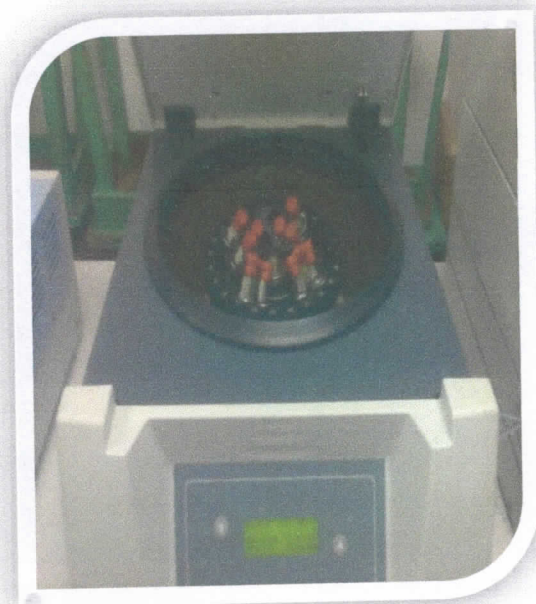
Muestras

Preparación de estándares

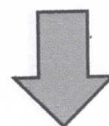




Centrifugación de muestras

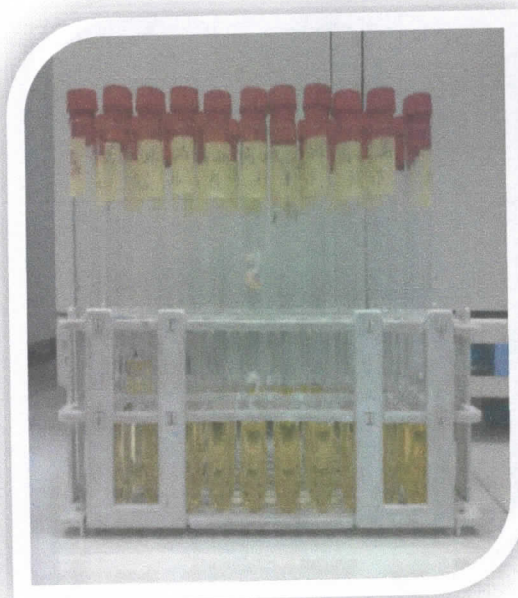
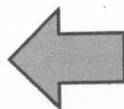


Soluciones de muestras



Centrifugado

Estándares y muestras con fenol

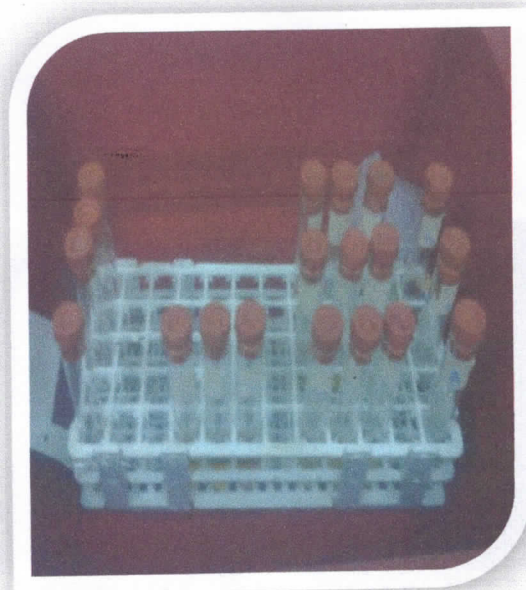




Adición de H_2SO_4 y coloración



Reposo en hielo



Lectura de estándares y muestras



Centrifugado



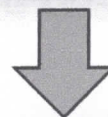
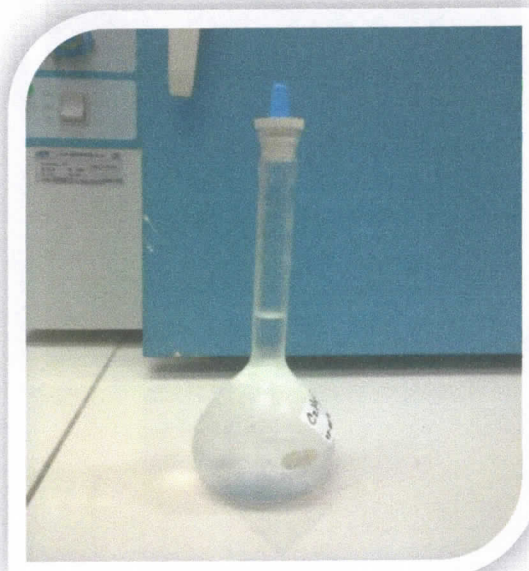
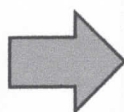
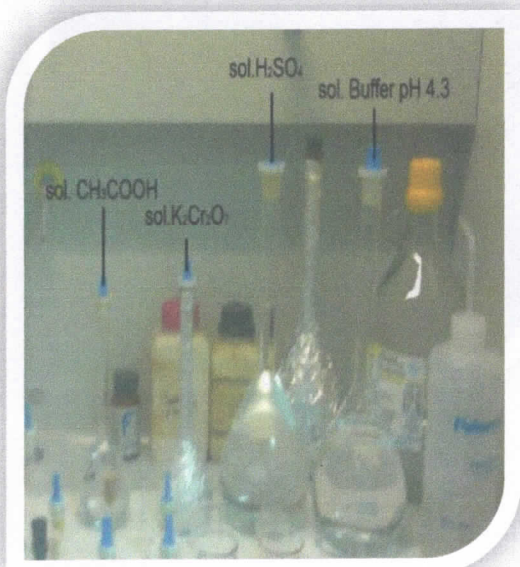


Anexo 18

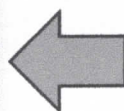
Flujograma 18.1. Procedimiento del método colorimétrico de determinación de etanol

Soluciones

Solución stock de etanol



Preparación de estándares

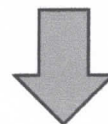
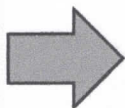
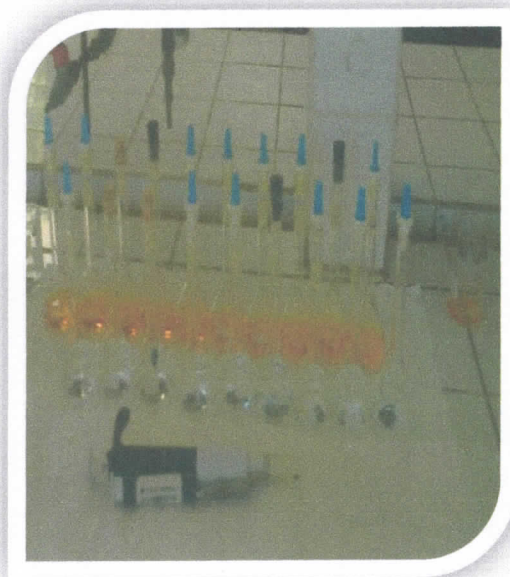




Preparación de muestras



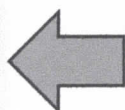
Adición de buffer y dicromato



Coloración después de 120 min



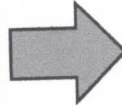
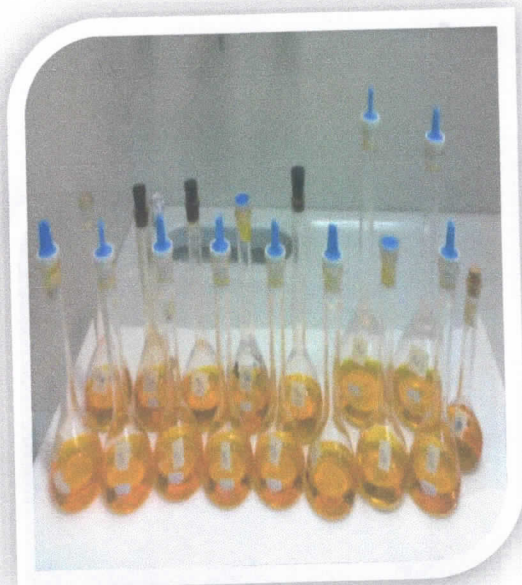
Adición de ácido sulfurico





Coloración de muestras después de 120 min

Lectura de estándares y muestras





Anexo 19

Flujograma 19.1. Medidas y rendimiento de naranjas

Medición vertical



Medición horizontal



Descascarado

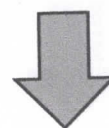
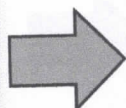


Pesado





Pesado sin cáscara



Pesado de albedo

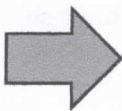


Pesado sin albedo

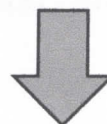




Pesado de cáscara



Secado



Pesado de cáscara seca





Anexo 20

Tabla 20.1. Rendimiento por plantas y por hectárea

*Sistema de cultivo	*N° de árboles por ha	*Edad años	Rendimiento					Residuo (cáscara) kg/ha
			*Número de frutos por pl	Número de frutos por ha	Peso de frutos pl/kg	Peso frutos ha/kg	Peso de frutos ha/tn	
Tradicional	204 pl/ha	3	30	6,120	6.96	1,420.88	1.42	44.31
		4	90	18,360	20.89	4,263.64	4.26	132.93
		5	200	40,800	46.43	9,472.53	9.47	295.39
		6	300	61,200	69.65	14,208.80	14.20	443.09
		7	450	91,800	104.48	21,313.21	21.31	664.63
Alta densidad	408 pl/ha	3	30	12,240	6.96	2,841.76	2.84	88.62
		4	90	36,720	20.89	8,525.28	8.52	265.85
		5	200	81,600	46.43	18,945.07	18.94	590.78
		6	300	122,400	69.65	28,417.61	28.41	886.18
		7	450	183,600	104.48	42,626.41	42.62	1329.26

pl: Planta; ha: Hectárea; kg: Kilogramo; tn: Toneladas

Fuente: * (Avilán L. R., 1983) y autor del trabajo investigativo

GLOSARIO

A

Amorfa: cuerpo cuyas partículas forman una estructura interna desordenada: los líquidos y los gases, no tiene forma o estructura definida.

B

Bayas: Tipo de fruto simple en que el ovario madura para formar una pared carnosa llamada pericarpio, en la que están insertas las semillas.

Biocombustible: Combustible de origen biológico obtenido de manera renovable a partir de restos orgánicos.

Biodegradable: Producto o sustancia que puede descomponerse en los elementos químicos que lo conforman, debido a la acción de agentes biológicos, como plantas, animales, microorganismos y hongos, bajo condiciones ambientales naturales.

Biomasa: Cantidad de materia acumulada en un individuo, un nivel trófico, una población o un ecosistema.

C

Cardo: Planta anual, de la familia de las Compuestas (*Asteraceae*), que alcanza un metro de altura, de hojas grandes y espinosas como las de la alcachofa, flores azules en cabezuela, y pencas que se comen crudas o cocidas.

Celulasa: Enzima compleja especializada en descomponer celulosa, transformándola en múltiples monómeros de glucosa.

Clostridia: clase de bacteria del filo Firmicutes, se caracteriza por ser bacilo anaerobio mayormente Gram positivo, la mayoría de géneros no forman esporas

Combustión: Reacción química de oxidación, en la cual generalmente se desprende una gran cantidad de energía en forma de calor y luz, manifestándose visualmente gracias al fuego u otros.

D

Detoxificación: Liberación de toxinas de un sustrato.

Deyección: Descarga o deposición de materias excrementicias, especialmente fecales.

E

Estereoquímica: Es una parte de la química que toma como base el estudio de la distribución espacial de los átomos que componen las moléculas y el cómo afecta esto a las propiedades y reactividad de dichas moléculas.

H

Hexosas: Monosacáridos (glúcidos simple) formados por una cadena de seis átomos de carbono, su fórmula general es $C_6H_{12}O_6$, su principal función es producir energía.

Hidrólisis: Descomposición o alteración de una sustancia.

I

Inhibidores: Compuesto que tiene por efecto frenar o impedir algunas reacciones químicas, como la oxidación, la corrosión, la polimerización, etc.

O

Oleaginosas: Vegetales de cuya semilla o fruto puede extraerse aceite, en algunos casos comestibles y en otros casos de uso industrial.

Orujillo: Pulpa de aceituna, procedente de la elaboración del aceite de oliva

P

Pallets: producto natural, catalogado como biomasa sólida, el cual está formado por cilindros muy pequeños, de unos pocos milímetros de diámetro.

Pentosa: Monosacárido (glúcido simple) formado por una cadena de cinco átomos de carbono que cumplen una función estructural.

Polímero: Macromoléculas compuestas por una o varias unidades químicas (monómeros) que se repiten a lo largo de toda una cadena.

X

Xilosa: Monosacárido que contiene cinco átomos de carbono y que contiene un grupo funcional aldehído- que tiene un isómero funcional que es la xilulosa.